

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Լ.Ա. ՕՐԲԵԼՈՒ ԱՆՎԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ԼԻԼԻՅԱ ՌԱՖԱՅԵԼԻ ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ

**ՆՍՏԱՆՑԱՐԴԻ ԿՐԱՇԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ՆՈՒԿԼԵՈ ՑՄՖ-Ի (NUCLEO CMP) և ՈՒՐՑԻ
(THYME) ԱՐԴՅՈՒՆԱՎԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄԸ**

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

ՄԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2014

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

ГЕВОРГЯН ЛИЛИЯ РАФАЭЛОВНА

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НУКЛЕО ЦМФ (NUCLEO CMP)
И ТИМЬЯНА (THYME) ПРИ КРАШЕ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.09 – «Физиология человека и животных»

ЕРЕВАН – 2014

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Լ. Ա. Օրբելու անվ. Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գիտական խորհրդում

Գիտական ղեկավար՝ կ.գ.դ. Վ. Ա. Չավուշյան-Պապյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կ.գ.դ., պրոֆ. Ջ. Ս. Սարգսյան
կ.գ.թ. Վ. Հ. Մալոյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ Մ. Հերացու անվան Երևանի պետական
բժշկական համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2014թ. ապրիլի 28-ին, ժ. 14⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Լ. Ա. Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում, Փորձարարական կենսաբանության 042 մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0028, ք. Երևան, Օրբելի եղբ. 22):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվ. Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գրադարանում և www.molbiol.sci.am կայքում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2014 թ. մարտի 26-ին

042 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,

կենս. գիտ. թեկնածու



Գ. Մ. Սկրոյան

Тема диссертации утверждена на ученом совете Института физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА

Научный руководитель: д. б. н. В. А. Чавушян-Папаян

Официальные оппоненты: д. б. н., проф. Дж. С. Саркисян
к. б. н. В. А. Малоян

Ведущая организация: Ереванский государственный
медицинский университет им. М. Гераци

Защита диссертации состоится 28 апреля 2014 г. в 14⁰⁰ч. на заседании специализированного совета 042 Экспериментальной биологии, в Институте физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА (РА, 0028, г. Ереван, ул. бр. Орбели 22).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА и на сайте www.molbiol.sci.am.

Автореферат разослан 26 марта 2014г.

Ученый секретарь специализированного совета 042,

кандидат биол. наук



Г. М. Мкртчян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. По эпидемиологическим данным заболевания периферической нервной системы занимают второе место среди заболеваний с временной утратой трудоспособности и функциональная неполноценность после повреждения седалищного нерва может иметь значительное социо-экономическое воздействие. В периферической нервной системе известная способность Шванновских клеток (ШК) поддерживать аксональную регенерацию создало неправильное представление о непременном успешном функциональном восстановлении. В условиях пролонгированного лишения поврежденного нейрона своей мишени (хроническая аксотомия) и длительной денервированности ШК дистального нервного культы (хроническая денервация) остается фактом прогрессивное уменьшение числа мотонейронов даже в условиях регенерирующих аксонов [Gordon T., 2003]. Отсутствие двигательного восстановления после длительной денервации у мышей считается в большей степени результатом реформирования синапсов, чем провала роста аксонов [Ma C. et al., 2011].

Травматическое повреждение периферических нервов сопровождается Уоллеровской дегенерацией, апоптозом некоторых нейронов, неправильным ростом двигательных и чувствительных нейритов. Основным барьером функционального восстановления является аномальная регенерация, поэтому клиницисты отмечают, что «центральная проблема не в активации регенерации аксонов, а в направлении таковых к собственным истокам» [Campbell W., 2008]. Прогрессирующая демиелинизация и пролиферация ШК, вызванные сдавливанием периферического нерва, индуцируют значительные изменения активности ионных каналов с последующими альтерациями образцов генерации и скорости проведения импульса [Mert T. et al., 2005]. Поэтому реактивация ШК дистального обрубка периферического нерва выступает эффективной экспериментальной стратегией стимулирования аксональной регенерации и функционального восстановления при хронической денервации [Sulaiman O., 2009].

После повреждения периферического нерва аксоны и миелиновые оболочки дистальнее места повреждения деградируют, и продукты дегенерации удаляются объединенным действием денервированных ШК и инфилтрирующих макрофагов. Уоллеровская дегенерация обслуживает установление микросреды, благоприятной для аксонального рероста. ШК в эндоневральных трубочках дистального нерва дедифференцируются по направлению немиелинизированного пролиферативного фенотипа, который сверхэкспрессирует ростовые факторы, молекулы клеточной адгезии и внеклеточный матрикс для поддержания/ускорения регенерации [Rodríguez F., 2004]. Хотя краш-поврежденный периферический нерв сохраняет анатомическую непрерывность и спонтанное восстановление, и, так или иначе, реиннервирует ткани-мишени [Mazzer P., 2008], тем не менее удлинение сроков реиннервации делает более значительным шанс долговременной денервационной атрофии тканей-мишеней. Поэтому ускорение регенерации нерва является решающим фактором для установления удовлетворительного функционального результата [Yuan Y., 2010].

Специализированные спинальные цепи, вовлеченные в контроль генерации и модуляции локомоторных паттернов способны самовоспроизводиться, даже в условиях отсутствия нисходящих или периферических входов [Guertin P., 2012], тем самым выступая надежной базой локомоторной пластичности и приспособляемости [Harris-Warrick R., 2011]. Однако, регуляция запуска и выполнения двигательной функции осуществляется также двигательными центрами головного мозга. Проводящие пути центральной нервной системы (ЦНС) связывают центры головного мозга между собой и со спинным мозгом, в обе стороны. В частности, в спинной мозг нисходит вестибулоспинальный путь, а из спинного мозга поднимается в головной спиновестибулярный восходящий путь, чем и обеспечивается синхронная обработка поступающей из периферии информации. Вестибулоспинальный тракт начинается

преимущественно от нейронов латерального вестибулярного ядра (ЛВЯ), аксоны которого в виде латерального вестибулоспинального тракта, не перекрещиваясь, направляются в спинной мозг, где заканчиваются на интернейронах поясничных сегментов. Аксоны интернейронов переключаются на α -малые и γ -мотонейроны передних рогов спинного мозга, контролирующие функционирование седалищного нерва [Boyle R., 2000].

В качестве воспроизводимой и стандартизированной модели повреждения седалищного нерва принято использование сдавливания, или краширования (аксонотмезис) [Bozkurt A. et al., 2008]. Краш нерва - испытанная модель в экспериментальных исследованиях воздействия различных фармакологических лечений на регенерацию [Kah-Hui W., 2011]. С целью диагностики и мониторинга, а также оценки фармакологической эффективности и профилирования новых и существующих препаратов в экспериментальных и клинических изучениях применяется количественное тестирование сенсорной чувствительности кожи и мышц [Arendt-Nielsen L., 2009; Verberne W. et al., 2013]. Однако, окончательно не выяснены аспекты взаимосвязи между функциональным восстановлением и статической/динамической моторной функцией [Neerven S. et al., 2012]. Считается, что для осмысления выбора стратегий восстановления нерва и терапевтических эффектов важны подходы с многосторонними независимыми оценочными инструментами [Bozkurt A. et al., 2011].

Поскольку в процессе Уоллеровской дегенерации после повреждения периферического нерва апоптоз и пролиферация ШК сосуществуют, и выраженность их генов имеет время-зависимые особенности, то считается, что стратегии, регулирующие ШК обеспечивают теоретическую базу для совершенствования клинической терапии [Sun G. et al., 2013]. В то же время, при повреждении периферических нервов показано значительное повышение потребности в пиримидиновых нуклеотидах [Moses E. et al., 1982], поскольку пораженная нервная ткань не способна синтезировать их вследствие истощения запасов соответствующих ферментов [Gerbershaden H., 1992]. Применение физиологических пиримидиновых нуклеотидов (в частности, уридина монофосфата и цитидина монофосфата) значительно ускоряет регенерацию нервных путей после травматического разрушения ткани [Watting B. et al., 1991], а также влияет на синтез миелиновых оболочек и метаболические пути, продуцирующие энергию, и аффекурует уровни различных нейротрансмиттеров [Ortinau S., et al., 2003; Secades J., 2011]. Препараты, увеличивающие синтез структурных фосфолипидов мембран и оказывающие защитное и репаративное действие, широко исследуются в головном мозге [Saver J., 2010], однако мало изучены относительно периферических нервов [Schuetttauf F. et al., 2006; Ozyar R. et al., 2007; Parisi V. et al., 2008].

Дегенерация нейронов и потеря синапсов при травматической нейродегенерации – мультифакторный процесс, сопровождаемый оксидативным стрессом, нейровоспалением, снижением выраженности трофических факторов в головном и спинном мозге [Wishart T. et al., 2006; Farooqui A., 2010]. Адаптивные ответы клеточного стресса требуют не только активации про-выживающих генов, но и индукции / экспрессии антиоксидативных и антиапоптотических молекул. В этом ключе, натуральные продукты имеют значительный вклад в лечебные мультимишенные стратегии нейродегенеративных заболеваний [Joynes P., 2011], в частности, актуальным остается исследование цитопротективного потенциала полифенольных фитохимических агентов [Calabrese V., 2008]. Растительные экстракты, имеющие позитивное взаимоотношение между тотальным содержанием фенолов, флавоноидов и антиоксидантной способностью, рассматриваются как источники нейропротективных фитомолекул в альтернативной терапии [Tavares L., 2011]. Однако, весьма ограничено их использование в качестве альтернативной растительной фармакотерапии для восстановления седалищного нерва [Mucimapura S. et al., 2010; Renno W. et al., 2013].

Принимая во внимание существенные нейропротективные свойства полифенолов (в частности флавоноидов) при дегенерации седалищного нерва [Renno W. et al., 2013], а также

антиоксидантные эффекты водного настоя *Thymus serpyllum* L., обуславливаемые высоким содержанием полифенолов [Kulisic T., 2007], и тот факт, что монотерпеноиды из *Thymol* (*Thymus vulgaris* и *Thymus serpyllum*) в нервной системе активируют TRPV3, TRPA1 рецепторы [Xu H., 2006; Karashima Y., 2007; Vogt-Eisele A., 2007; Viana F., 2011], которые являются терапевтическими мишенями при периферических нейропатиях [Kennedy W., 2010], нами выдвинуто предположение о возможной нейропротекторной эффективности *Thymus vulgaris* и *Thymus serpyllum* при краш-повреждении седалищного нерва. Учитывая, что важнейшим свойством V3, A1 рецепторов является модификация ионных каналов [Chung M., 2008], актуально электрофизиологическое исследование возможного нейропротективного потенциала Тимьяна при краш-повреждении седалищного нерва.

Малоизученными остаются электрофизиологические показатели мотонейронов спинного мозга [Minasyan A. et al., 2011] и нейронов ЛВЯ после краша седалищного нерва.

Цель и задачи исследования. Целью изучения явилась оценка терапевтической эффективности препарата Нуклео ЦМФ и этанольного экстракта *Thymus serpyllum* при унилатеральном краше (или раздавливании) седалищного нерва крыс. В задачи исследования входили:

- изучение динамики и степени восстановления поврежденных нервов на основе поведенческого тестирования показателей моторной и чувствительной функций в группах контроль (краш-повреждение), краш-Нуклео ЦМФ (положительный контроль) и краш-*Thymus serpyllum*;
- изучение спайковой активности одиночных мотонейронов поясничного отдела спинного мозга, вызванной на высокочастотную стимуляцию (ВЧС) дистальных коллатеральных ответвлений (*nervus tibialis* и *nervus peroneus communis*) поврежденного седалищного нерва в группах норма, контроль, Нуклео ЦМФ (положительный контроль) и *Thymus serpyllum*;
- изучение спайковой активности одиночных нейронов ЛВЯ, вызванной на ВЧС дистального участка поврежденного седалищного нерва в группах норма, контроль, Нуклео ЦМФ (положительный контроль) и *Thymus serpyllum*;
- изучение динамики изменений вызванной активности единичных мотонейронов спинного мозга и нейронов ЛВЯ после однократного внутримышечного введения терапевтической дозы Нуклео ЦМФ и экстракта *Thymus serpyllum*, для выявления электрофизиологических параметров возможных механизмов воздействия.

Научная новизна. Впервые выявлена ускоренная по сравнению с контролем моторная реиннервация, а также значительное восстановление сенсорной функции к 30 дню после краша седалищного нерва в условиях системного применения Нуклео ЦМФ и Тимьяна. Получены новые электрофизиологические данные о смягчении аномального баланса типов вызванной активности мотонейронов поясничного отдела спинного мозга и нейронов ЛВЯ при высокочастотной стимуляции дистального участка поврежденного седалищного нерва в условиях системного применения Нуклео ЦМФ и Тимьяна, выявленного в контроле к 30 дню краша седалищного нерва. Впервые показано морфологическое восстановление участка поврежденного седалищного нерва под воздействием Нуклео ЦМФ и Тимьяна. Впервые показано повышение возбудительной активности единичных мотонейронов, и занижение фоновой / повышение вызванной активности единичных нейронов ЛВЯ после однократной в/м инъекции терапевтической дозы Нуклео ЦМФ, а также повышение фоновой / вызванной активности единичных мотонейронов и нейронов ЛВЯ после однократной в/м инъекции терапевтической дозы экстракта *Thymus serpyllum*, что указывает на стимулирующее воздействие Нуклео ЦМФ и Тимьяна на систему возбудительных и тормозных нейромедиаторов ЦНС – важный компонент нейрональной пластичности и протекции.

Научно-практическое значение. Получены новые данные, имеющие ценное теоретическое

значение для вопросов клинического восстановления / реконструкции после повреждения периферического нерва, а также расширяющие возможности направленного поиска и изучения лекарственных препаратов для лечения больных с травматическими поражениями седалищного нерва. Совокупность поведенческих, электрофизиологических и морфогистохимических данных свидетельствует о повышении функциональных резервов нейронов центральной и периферической нервной системы, подвергшихся дегенеративным изменениям после раздавливания седалищного нерва, на фоне профилактического введения Нуклео ЦМФ (положительный контроль) и экстракта гидропонического *Thymus serpyllum*. Получены данные, обеспечивающие основу, для разработки новых методов лечения нейродегенеративных заболеваний травматического генеза растительными антиоксидантами (в составе экстракта гидропонического *Thymus serpyllum*). Природные антиоксиданты экстракта *Thymus serpyllum*, модулируя сигнальные пути провыживания или проапоптоза могут иметь больший триггирующий потенциал, чем препараты с единственным механизмом действия. В работе выявлены благотворные эффекты Нуклео ЦМФ и Тимьяна, ассоциированные с изменениями функциональной действенности сохранившихся нейронов спустя 30 дней после краша, как результат модификаций активационного статуса нейротрансмиттеров и нейрональной сигнализации, выявленной в образцах синаптической активности популяций мотонейронов и нейронов ЛВЯ. Имитацией клинической ситуации и детерминированием эффектов фармакологической коррекции существующим препаратом (Нуклео ЦМФ) и потенциальным растительным заменителем, в работе дано фундаментальное обоснование возможности клинической апробации альтернативного варианта эффективного лечения краш-повреждения седалищного нерва.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на Международной конференции, посвященной 130-летию акад. Л.А.Орбели «Physiological Mechanisms of Organisms' Functional Regulation», Ереван 10-13 октября 2012г.; Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2013»; Конференции молодых ученых “New Aspects in Molecular Biotechnology and Biochemistry”, 2013, Yerevan 27-29 июня 2013, Армения; IBRO-Kemali College on “RNA and the Etiology of Brain Disease”, 25-31 August 2013, Cortona Italy; Third Jubilee International Conference of Neuroscience and Biological Psychiatry, 2013, Yerevan, 22-24 Sept. 2013 Armenia; International Symposium on Neuroscience and Biological Psychiatry “Stress and Behavior”, 20-21 Sept. 2013, Yerevan, Armenia; International Brain Research Organization (IBRO) School "Injury and regeneration of the nervous system". 25Oct.-1Nov 2013, Nantong, China

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ.

Структура диссертации. Диссертация изложена в традиционной форме на 125 страницах и включает 30 иллюстраций, 7 таблиц. «Литературный обзор» изложен на 26 страницах, «Результаты и их обсуждение» - на 55 страницах. Список цитируемой литературы содержит 240 источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на крысах-самцах альбиносах (230±20г) в следующих группах: 1) интактные животные (n=12), 2) хронические животные с раздавливанием седалищного нерва (контроль, n=14), 3) хронические животные, получающие Нуклео ЦМФ после раздавливания седалищного нерва (лечение или положительный контроль, n=14) и 4) хронические животные, получающие *Thymus vulgaris* и *Thymus serpyllum* после раздавливания седалищного нерва (лечение, n=21), 5) интактные животные, однократно получающие Нуклео ЦМФ в остром эксперименте (n=8), 6) интактные животные, однократно получающие *Thymus serpyllum* в остром эксперименте (n=8). Эксперименты и уход за животными проведены в соответствии с «Правилами и нормами гуманного обращения с экспериментальными животными».

Сдавливание левостороннего седалищного нерва в верхней трети бедра (4 мм выше трифуркации) производили под нембуталовым наркозом (40 мг/кг в/б) посредством сжатия кровоостанавливающим незазубренным зажимом в положении первого зубца в течение 30 сек [Bridge P. et al., 1994], с последующим наложением швов на мышечные / кожные ткани и подкожным введением Бицилин 3.

Препарат Нуклео ЦМФ форте (Nucleo CMP Forte. Ferrer Internacional N07X X10) вводили в медиальную широкую мышцу бедра ежедневно (0,94 мг/кг) со следующего дня после операции в течение шести дней. Нуклео ЦМФ содержит нуклеотиды цитидина-5-монофосфат, уридина-5-трифосфат, уридина-5-дифосфата, уридина-5-монофосфата. Цитидин монофосфат принимает участие в синтезе комплекса липидов, которые формируют сфингомиелин - основной компонент миелиновой оболочки. Уридин трифосфат действует как кофермент в синтезе гликолипидов, нейрональных структур и миелиновой оболочки, дополняя действие цитидин монофосфата.

На базе Института проблем гидропоники им. Г.С. Давтяна разработан биотехнологический способ получения высококачественного лекарственного сырья (сопряженный метод клонального микроразмножения *in vitro* и гидропоники) [Sargsyan E., 2011], дающий возможность широкого применения малотоксичных растений (в частности *Thymus serpyllum* - чабрец ползучий). Биохимические анализы лекарственного сырья *Thymus serpyllum* в гидропонике показали высокое содержание эфирного масла (2,3-2,6%), по сравнению с почвенным контролем (1,7%) и дикорастущим (1,4%) [Sargsyan E. et al., 2012]. Антирадикальная активность сухих этанольных экстрактов *Thymus serpyllum* и содержание экстрактивных веществ (суммы флавоноидов, рутина, кверцетина и дубильных веществ) в гидропоническом лекарственном сырье превышает таковые в дикорастущем сырье [Sargsyan E. et al., 2012]. *Thymus serpyllum* вводили в дозе 14 мг/кг в/м ежедневно в течение трех недель. В опытах использован также экстракт почвенного варианта *Thymus vulgaris* в дозе 7,5 мг/кг в/м ежедневно в течение трех недель.

Спустя 1 - 30 дней после сдавливания седалищного нерва во всех экспериментальных группах проведен сравнительный анализ динамики восстановления чувствительной и двигательной функций, основанный на показателях теста рефлекса отведения и статического седалищного индекса, соответственно. Тест рефлекса отведения проводили путем раздражении постоянным током 3 точек наружной стороны подошвы задних лап биполярным электродом, состоящим из 2 медных проволок диаметром 1мм с межэлектродным расстоянием 2 мм [Dijkstra J. 2000]. Цифровым показателем данного теста служила пороговая величина силы тока (мА), вызвавшая рефлекс отведения на поврежденной и здоровой конечностях. Все числовые значения (величины) представлены как усредненные значения \pm SEM по t-критерию Стьюдента для 5-6 животных. Различия считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Для сбора данных статического седалищного индекса крыс помещали в пластиковую коробку со стеклянным дном и в течение 5 мин оставляли в покое для адаптации. Затем с помощью цифровой фотокамеры производили съемки поверхности задних лап [Bervar M., 2000]. Далее снимки переводили на платформу графической программы Adobe Photoshop и с помощью инструмента «линейка» измеряли параметры лап крысы, в частности, размах I-V пальцев (toe-spread – TS) и размах II-IV пальцев (intermediate toe-spread – ITS) здоровой и пораженной стопы, с последующим вычислением на платформе MS Excel средних арифметических каждого параметра для каждой стороны. Статический седалищный индекс вычисляли по специально разработанной формуле [Bervar M., 2000] : $SSI = (108,4 \times TSF) + (31,85 \times ITSF) - 5,49$, где TSF (фактор размаха I – V пальцев) = $TS_{поврежд.} - TS_{здоров.} / TS_{здоров.}$; ITSF (фактор размаха II – IV пальцев) = $ITS_{поврежд.} - ITS_{здоров.} / ITS_{здоров.}$. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы SigmaPlot 11.00 (данные анализированы с использованием one-way

ANOVA). Все числовые значения (величины) представлены как усредненные значения \pm SEM для 5-6 животных. Различия считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Спустя 30 дней под уретановой анестезией (1,1 г/кг в/б) животных фиксировали в стереотаксическом аппарате, вводили миорелаксант (1% дитиллин, 25 мг/кг в/б) и переводили их на искусственное дыхание. Далее производили дорсальную ламинэктомию пояснично-крестцового отдела спинного мозга, а также отпрепаровывали дистальные ответвления сдавленного седалищного нерва – n. tibialis и n. peroneus communis. Для экстраклеточной регистрации спайковой активности мотонейронов стеклянный микроэлектрод с диаметром кончика 1 мкм, заполненный 2 М раствором NaCl, многократно погружали по стереотаксическим координатам (L – 0,7-1,6 мм, V – 1,7-1,85 мм) в передние рога серого вещества поясничных сегментов спинного мозга (L4-L5 ипсилатеральной стороны по отношению к поврежденному нерву); для регистрации спайковой активности нейронов ЛВЯ – по стереотаксическим координатам AP -11,3; L \pm 1,8-2,4 мм, DV + 6,6-7,4 мм [Paxinos G., Watson Ch., 2005]. ВЧС (50 Гц в течение 1сек) n.tibialis и n.peroneus communis осуществляли биполярными серебряными электродами путем применения толчков прямоугольного постоянного электрического тока длительностью 0,05 мсек и амплитудой 0,10 - 0,16 мА.

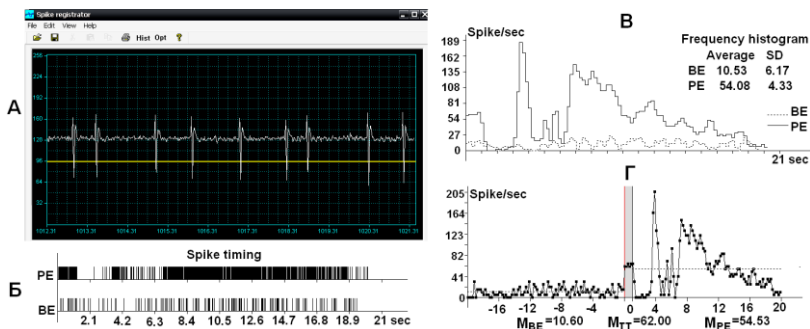


Рисунок 1. А - импульсный поток единичного мотонейрона (показана селекция посредством амплитудного дискриминатора); Б – престимульная (BE-before event) и постстимульная (PE-post event) спайковая активность в реальном времени; В, Г - гистограммы средней частоты с данными многоуровневой статистической обработки дифференцированно для пре- и постстимульного времени, включая период ВЧС (ТТ-tetanzation time)

Импульсный поток единичных нейронов, после селекции посредством амплитудного дискриминатора (Рис.1 А), подвергался программному анализу, с последующим выводом распределенного в реальном времени пре- и постстимульного спайкинга активности (Рис.1 Б), и построением на их основе гистограмм средних частот с данными многоуровневой статистической обработки дифференцированно для пре- и постстимульного времени, включая период ВЧС (Рис.1 В, Г) (разработчик В.С. Каменецкий).

Целью анализа данной программы является определение статистической достоверности наблюдаемых различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия ВЧС. Традиционным методом проверки однородности двух независимых выборок является t-критерий Стьюдента. Для повышения надежности статистических оценок использовался также непараметрический метод проверки однородности двух совокупностей из которых получены выборки. В используемом программном модуле обеспечивается расчет z-теста, разновидности критерия Wilcoxon-Mann-Whitney, учитывающей асимптотическую нормальность данного критерия и позволяющая сравнивать расчетные значения с табличными значениями

стандартного нормального распределения. Вычисление значений t-статистики Стьюдента и z-статистики Wilcoxon-Mann-Whitney и сравнение таковых с табличными значениями нормального распределения при уровнях значимости 0.05, 0.01, 0.001 для каждой нейрональной единицы, позволяет иметь данные со статистически значимыми изменениями перистимульной спайковой активности. После регистрации нейрональной активности все записи сортировались соответственно типу ответа: торможение на время ВЧС (тетаническая депрессия – ТД) и постстимульное время (посттетаническая депрессия – ПТД), возбуждение на время ВЧС (тетаническая потенциация – ТП) и постстимульное время (посттетаническая потенциация – ПТП), как и ареактивные нейрональные единицы. Для избираемых экспериментальных групп и анализируемых типов ответов программно выстраиваются сравнительные усредненные перистимульные временные гистограммы, усредненные перистимульные гистограммы частоты и усредненные перистимульные кумулятивные кривые, а также остаточные (или разностные) гистограммы с вычислением $F = N - n / n$ (где N – престимульный, n – постстимульный спайкинг).

Экспериментальные данные получены в целом на 77 крысах. В мотонейронах спинного мозга зарегистрировано всего 1407 нейронов, из коих 480 нейронов в норме, 221 – в контрольной группе, 215 нейронов – в группе Нуклео ЦМФ, 257 нейрона в группе *Thymus vulgaris* и 234 нейрона в группе *Thymus serpyllum*. В ЛВЯ зарегистрировано всего 860 нейронов, из коих 236 нейронов в норме, 170 – в контрольной группе, 222 нейрона – в группе Нуклео ЦМФ и 232 нейрона в группе *Thymus serpyllum*.

Морфогистохимические исследования седалищного нерва (n=13) проведены согласно подходу по выявлению активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы [Меликсетян И., 2003] на базе лаборатории нейроморфологии и гистохимии Института физиологии им Л.А.Орбели.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование динамики изменений двигательной и чувствительной реиннервации поврежденной конечности в контроле и в условиях системного введения Нуклео ЦМФ и Тимьяна после унилатерального краха седалищного нерва

Согласно усредненным показателям статического седалищного индекса (ССИ) группы краш-контроль, моторная функция резко ухудшается уже со следующего дня после краха (ССИ= -93,4±1,07; P=0,0001) и тенденция ухудшения сохраняется до 13-16 дня (ССИ= -96,8±2,67 ; P=0,0001), после чего отмечается незначительное восстановление до исходного уровня (ССИ= -80,8±1,1 ; P=0,0001) к 30-32 дню (Рис. 2). Согласно показателям теста рефлекса отведения (ТРО) группы контроль, спустя день после повреждения седалищного нерва чувствительность к электрическому току, приложенному к коже подошвы, незначительно повышается на здоровой конечности (величина ТРО уменьшается от 50,96±3,4 до 50,14±1 мА) и значительно понижается на поврежденной конечности (величина ТРО возрастает от 50,96±3,4 до 100,76±2,3 мА; P<0,0001) (Рис. 3). К 30 дню краш-повреждения на здоровой конечности показатели тестирования чувствительности (50,78±2,3 мА) практически соответствуют таковым до краш-повреждения (50,96±3,4 мА), а на поврежденной конечности отмечается некоторое снижение величины тока (до 90,6±5,3 мА; P=0,0009), вызывающего рефлекс отведения, не достигающее до исходной величины. Таким образом, в контрольной группе показана спонтанная незначительная чувствительная реиннервация поврежденной конечности к 30 дню краш-повреждения.

В группе Нуклео ЦМФ уже к 7 дню краш-повреждения, т.е. после завершения курса нуклеотидной терапии, показатели моторной функции значительно улучшены по сравнению с таковыми в эти же сроки в группе контроль (ССИ=-76,2 ± 6,1 и ССИ= -105,8 ± 1,9 соответственно) (Рис. 2). В динамике до 30-32 дня тенденция восстановления показателей

статической моторной функции наблюдается как в группе контроль, так и в группе Нуклео ЦМФ, однако таковые в контроле составляют $-80 \pm 1,1$, а в группе нуклеотидной терапии – $-4 \pm 6,6$ ($P=0,008$ или $P<0,01$), т.е. практически соответствуют исходному уровню (когда ССИ= 0) (Рис. 2). В группе Нуклео ЦМФ согласно показателям величины тока, вызывающего рефлекс отведения, спустя день после повреждения седалищного нерва в поврежденной конечности чувствительность к электрическому току значительно понижается (величина ТРО возрастает от $56,5 \pm 2,8$ до 110 ± 2 мА ; $P<0,0001$), а к 30 дню отмечается значительное снижение величины тока (70 ± 3 мА; $P \leq 0,01$), вызывающего рефлекс отведения, с приближением до исходной предоперационной величины ($56,5 \pm 2,8$). На здоровой конечности чувствительность к электрическому току, как и в контрольной группе, незначительно повышается спустя день и практически соответствует исходному уровню к 30 дню краш-повреждения седалищного нерва. Таким образом, показана значительная чувствительная реиннервация поврежденной конечности к 30 дню краша седалищного нерва в условиях нуклеотидной терапии.

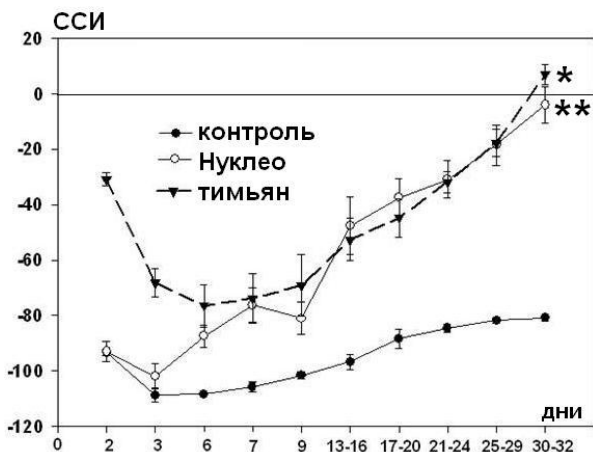


Рисунок 2. Усредненные показатели ССИ задних конечностей (тест статической моторной функции) в динамике от 1 до 30 дней после краша седалищного нерва в группах контроль, Нуклео и Тимьян. Сплошная горизонтальная линия (на уровне 0) – предоперационный уровень, или отсутствие разницы между здоровой и поврежденной лапой. * $P<0.05$ и ** $P<0.01$ значимость различия по сравнению с исходным предоперационным уровнем. Справа - фотоснимки в динамике послеоперационных дней (1, 14, 30 дни) после краша в группе Нуклео

В группе Тимьяна к третьей неделе краш-повреждения, т.е. после завершения курса фитотерапии, показатели моторной функции составляют ССИ= $-31,8 \pm 3,8$, что практически соответствует таковым в группе Нуклео ЦМФ (ССИ= $-30,8 \pm 6,7$) (Рис. 2). Тенденция восстановления показателей ССИ сохраняется в динамике до 30-32 дня после системного применения водного раствора этанольного экстракта *Thymus serpyllum*, и в эти сроки ССИ= $7 \pm 3,7$ ($P=0,016$ или * $P<0.05$) (таковые в контроле ССИ= $-80,8 \pm 10,1$), т.е. показано восстановление статической моторной функции с незначительным отклонением от исходного уровня (Рис. 2).

В группе Тимьяна согласно показателям величины тока, вызывающего рефлекс отведения, спустя день после повреждения седалищного нерва в поврежденной конечности чувствитель-

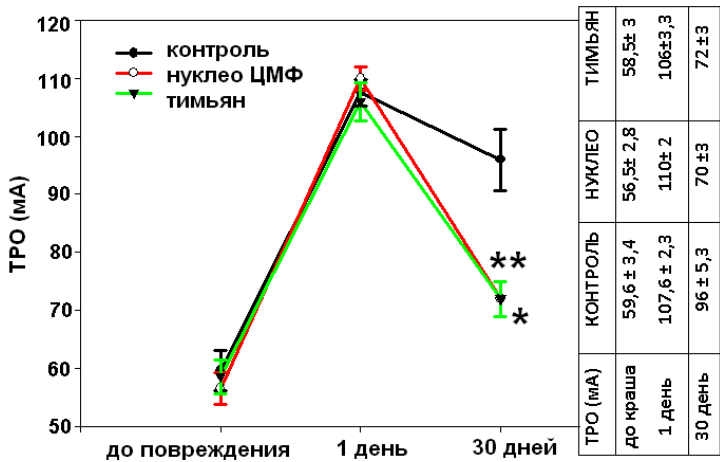


Рисунок 3. Усредненные показатели электрической стимуляции (мА) кожи подошвы поврежденной лапы задней конечности, вызывающие рефлекс отведения (количественный тест чувствительной функции) до и на 1/30 дни краша седалищного нерва в сравниваемых группах контроль, Нуклео ЦМФ (** $P < 0,01$) и Тимьян (* $P < 0,05$)

ность к электрическому току значительно понижается (величина ТРО возрастает от $58,5 \pm 3$ до $106 \pm 3,3$ мА; $P = 0,0001$), а к 30 дню отмечается значительное снижение величины тока (72 ± 3 мА; $P = 0,0277$), вызывающего рефлекс отведения, с приближением до исходной предоперационной величины ($58,5 \pm 3$ мА) (Рис. 3). Таким образом, показана значительная чувствительная реиннервация поврежденной конечности к 30 дню краш-повреждения в условиях системного применения водного раствора этанольного экстракта *Thymus serpyllum*.

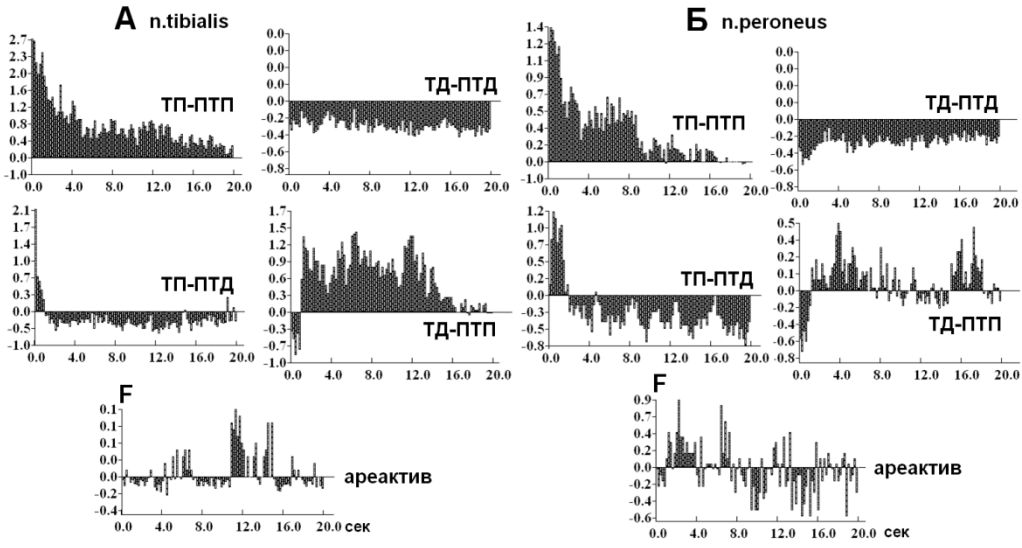


Рисунок 4. Разностные (остаточные) перистимульные гистограммы ($F = N - n/n$) для популяций мотонейронов спинного мозга с ТП-ПТП, ТД-ПТД, ТП-ПТД, ТД-ПТП ответами и ареактивных единиц на стимуляцию *n.tibialis* (А) и *n.peroneus communis* (Б) для группы краш-контроль

Электрофизиологическое исследование активности мотонейронов спинного мозга, вызванной на стимуляцию *n. tibialis* и *n. peroneus communis* в норме и после унилатерального краша седалищного нерва

Анализ выраженности в норме постстимульных эффектов после вычета престоимельного спайкинга ($F=N-n/n$), зарегистрированных в мотонейронах с возбудительными и тормозными компонентами ответов свидетельствует о: 1) большей выраженности ТП ($F=8,7$) и ПТП ($F=2,2$) при стимуляции *n.tibialis*, по сравнению с таковыми при стимуляции *n.peroneus communis* ($F=5,5$ и $F=0,8$ соответственно); 2) большей выраженности ТД ($F=0,6-0,8$) и ПТД ($F=0,8$) при стимуляции *n.peroneus communis*, по сравнению с таковыми при стимуляции *n.tibialis* ($F=0,6-0,4$ и $F=0,4$ соответственно). Сравнительный анализ остаточных перистимульных гистограмм всех типов ответов, зарегистрированных в мотонейронах в группе контроль по сравнению с нормой, свидетельствует о меньшей выраженности и возбудительных (ТП, ПТП) ($F= 2,7$ и $1,5$) и тормозных (ТД, ПТД) ($F=0,7$ и $F=0,4$ соответственно) компонентов, как при стимуляции *n.tibialis*, так и *n.peroneus* ($F= 1,4$ и $0,5-0,7$ для ТП и ПТП; $F= 0,7$ и $0,4$ для ТД и ПТД) (Рис 4). В контрольной группе зарегистрированы нейроны, не изменяющие частоту постстимульного спайкинга после и на время ВЧС дистальных коллатералей поврежденного седалищного нерва – ареактивные единицы.

Электрофизиологическое исследование активности мотонейронов спинного мозга, вызванной на стимуляцию *n. tibialis* и *n. peroneus communis* в условиях системного введения нуклео ЦМФ и Тимьяна после унилатерального краша седалищного нерва

Результаты анализа характера и степени выраженности спайковой активности мотонейронов, вызванной на ВЧС дистальных ответвлений сдавленного седалищного нерва (*n.tibialis* и *n.peroneus communis*), приведены на рисунке 5, на котором демонстрируются сравнительные усредненные перистимульные куммулятивные кривые (А-Г) и их же перистимульные гистограммы средней частоты. В группах Нуклео, контроль, норма сравнение выраженности ответов в мотонейронах при ВЧС *n.tibialis* (рис. 5) на основе перистимульных гистограмм средней частоты позволяет заключить: 1) в мотонейронах, проявляющих ТП-ПТП ответы на время ВЧС возбуждение выражено 6,3 раза (25,77:4,07) в группе Нуклео, 4,6 раз (24,30:5,32) в группе контроль и 9,2 раза (56,37:6,14) в норме; на постстимульный временной отрезок (Мпост) возбуждение выражено 2,6 раза (10,74:4,07) в группе Нуклео, 2,2 раз (11,69:5,32) в группе контроль и 2,2 (13,21:6,14) в норме; и при этом согласно куммулятивным кривым уровень постстимульного спайкинга в леченой и контрольной группах значительно уступает таковым в норме (рис. 5, А). Перистимульные гистограммы средней частоты мотонейронов с тормозными ответами (рис. 5 Б) указывают на 3-кратное (10,01:3,24), 1,4-кратное (14,06:10,44) и 2,3-кратное (15,05:6,68) торможение на постстимульное время в группах Нуклео, контроль и норма, соответственно; и при этом, в контроле и норме имеем идентичный уровень престоимельных куммулятивных кривых. Согласно гистограммам средней частоты мотонейронов с ТД-ПТД ответами (рис. 5, В) на постстимульное время возбуждение выражено 1,8 раз (25,51:14,03) в группе Нуклео, 1,6 раз (18,64:11,36) в группе контроль и 1,7 (31,58:18,36) в норме; при этом уровень усредненного куммулятивного кривого спайкинга мотонейронов группы Нуклео занимает промежуточное положение между таковыми в контроле и норме. Перистимульные гистограммы средней частоты мотонейронов с ТП-ПТД ответами (рис. 5, Г) указывают на 3,6-кратное (34,00:9,44), 2-кратное (24,69:11,77) и 5-кратное (53,91:10,88) возбуждение на время ВЧС в группах Нуклео, контроль и норма, соответственно; в этих же нейронах торможение на постстимульное время выражено 2-кратно (9,44:4,84), 1,4-кратно (11,77:8,43) и 2-кратно (10,88:5,49) в соответствующих экспериментальных группах; при этом,

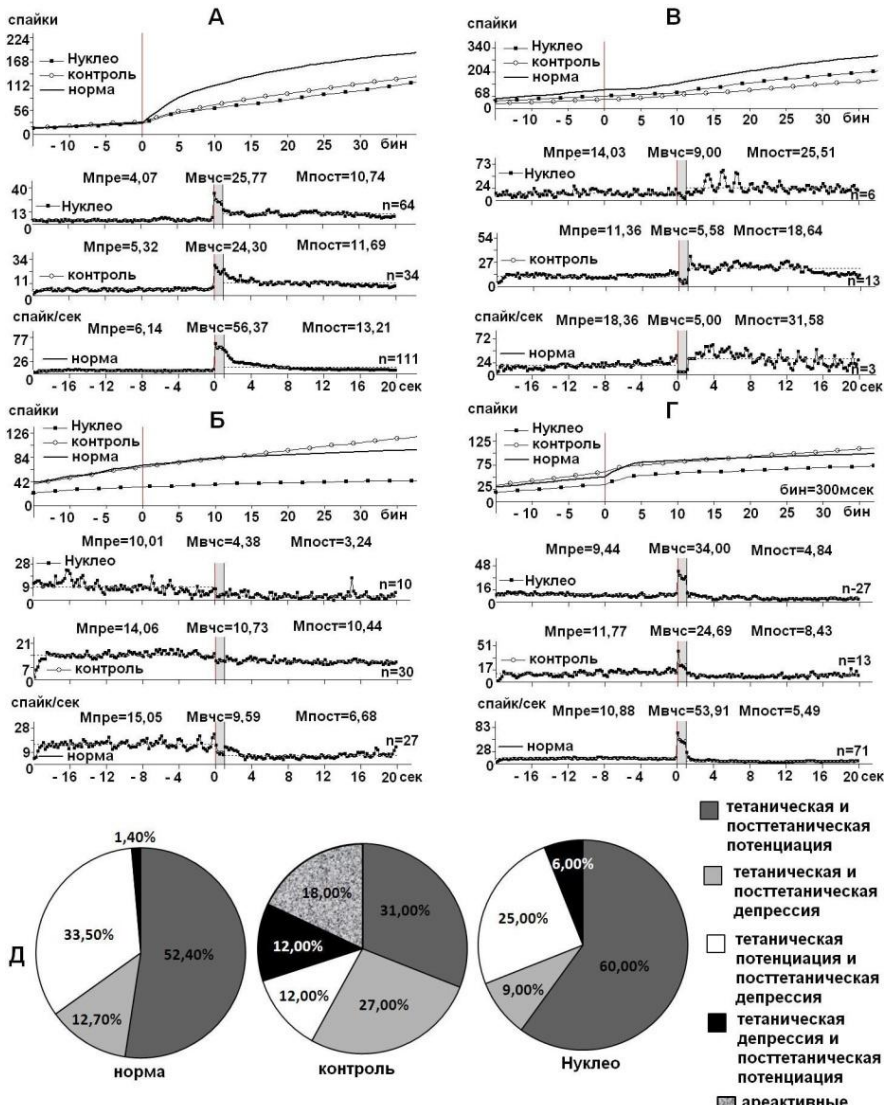


Рисунок 5. Сравнительные перистимульные усредненные куммулятивные гистограммы для мотонейронов спинного мозга с ТП-ПТП (А), ТД-ПТД (Б), ТД-ПТП (В), ТП-ПТД (Г) типами ответов при ВЧС *n.tibialis* в группах Нуклео ЦМФ, контроль и норма. Снизу – диаграммы средней частоты спайков для каждой группы, с указанием цифровых значений средней частоты спайкинга (спайк/сек) в реальном времени 20 сек до ВЧС (Мпре), 20 сек после ВЧС (Мпост) и на время ВЧС (Мвчс); *n* – количество нейронов, частота спайковой активности которых усреднена на данной диаграмме. Д – процентное долевое соотношение указанных типов ответов на ВЧС *n.tibialis* в тех же группах

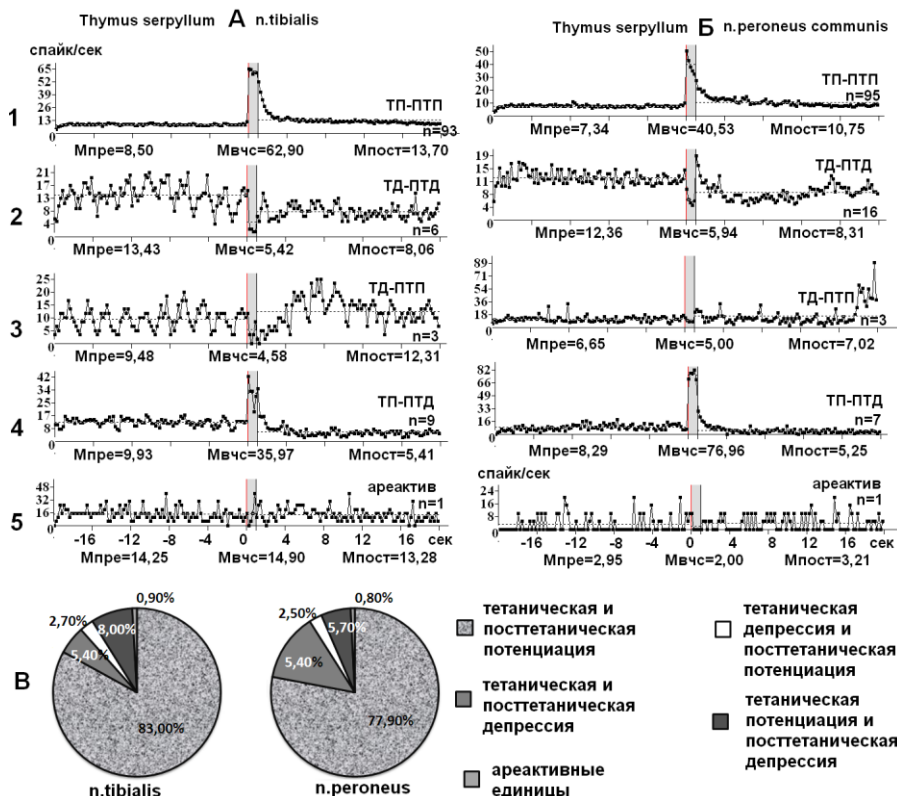


Рисунок 6. Перистимульные гистограммы средней частоты спайковой активности единичных мотонейронов при высокочастотной стимуляции нервов *n. Tibialis* (A) и *n. peroneus communis* (B) для экспериментальной группы *Thymus serpyllum*. Снизу указаны цифровые значения средней частоты в реальном времени 20 сек до (Mпре), 20 сек после (Mпост) и на время ВЧС (Mвчс)

усредненная куммулятивная кривая группы Нуклео имеет наименьший уровень перистимульного спайкинга. Согласно процентному долевому соотношению указанных типов ответов (рис. 5, Д) в группе Нуклео на ВЧС *n.tibialis* доминируют (60%) мотонейроны, проявляющие TP-ПТП, а для контрольной группы характерны арективные единицы (18%), практически одинаковая доля возбудительных (31%) и тормозных (27%) ответов, а также ответов смешанного типа (по 12%). Перистимульные гистограммы средней частоты спайковой активности мотонейронов, зарегистрированных на ВЧС *n. peroneus communis* демонстрируют: 1) в популяциях мотонейронов с TP-ПТП ответами на время ВЧС возбуждение выражено 4,8 раза в группе Нуклео, 2,8 раза в группе контроль и 5,9 раза в норме; 2) в мотонейронах с TD-ПТД ответами на время ВЧС торможение выражено 2,2 раза, 1,7 раза и 2,4 раза в группах Нуклео, контроль и норма, соответственно; 3) в мотонейронах с TD-ПТП ответами возбуждение на постстимульное время выражено 2 раз в группе Нуклео, 1,1 раз в группе контроль и 1,3 в норме; 4) перистимульные гистограммы средней частоты мотонейронов с TP-ПТД ответами указывают на 4,4-кратное, 2-кратное и 5,2-кратное возбуждение на время ВЧС в группах Нуклео, контроль и норма, соответственно; в этих же нейронах торможение на постстимульное

время выражено 1,5-кратно, 1,4-кратно и 1,3-кратно в соответствующих экспериментальных группах. Согласно куммулятивным кривым в мотонейронах с ТП-ПТП, ТД-ПТД и ТП-ПТД ответами уровень постстимульного спайкинга в леченой группе уступает таковому в норме и контрольной группам, а для нейронов с ТД-ПТП куммулятивная кривая группы Нуклео практически соответствует таковой в норме. Согласно процентному долевому соотношению указанных типов ответов в группе Нуклео на ВЧС *n. peroneus communis* как и в норме доминируют (62%) мотонейроны, проявляющие ТП-ПТП, а ТП-ПТД ответы проявляют 23% (в норме) и 20% (Нуклео) из общего числа зарегистрированных единиц. Для контрольной группы характерны ареактивные единицы (13%), уменьшение доли нейронов с ТП-ПТД ответами (9%) и практически неизменное по сравнению с нормой соотношение ТД-ПТД и ТД-ПТП ответов.

На Рисунке 6 демонстрируются перистимульные гистограммы средней частоты спайковой активности единичных мотонейронов на стороне повреждения при ВЧС нервов *n. tibialis* и *n. peroneus communis* для экспериментальной группы *Thymus serpyllum*, цифровые значения которых свидетельствуют о лучшей выраженности ответов в группе *Thymus serpyllum* по сравнению с контролем. Так, если в контроле на ВЧС нерва *n. tibialis* возбудительный компонент ТП-ПТП и ТП-ПТД ответов выражены 4.56 раз (24,30 : 5,32 спайк/сек) и 2.27 раз (26,73 : 11,77 спайк/сек) соответственно, то в группе *Thymus serpyllum* – 7,4 раз (62,90 : 8,50 спайк/сек) (Рис. 6 А1) и 3,62 раз (35,97 : 9,93 спайк/сек) (Рис. 6 А4) соответственно. На ВЧС нерва *n. peroneus communis* разница выраженности ответов в сравниваемых группах боее выражена. Если в контроле ТП выражена 2.85 раз (23,93 : 8,38 спайк/сек) и 1.9 раз (18,13 : 9,51 спайк/сек), то в группе *Thymus serpyllum* – 5,52 раз (40,53 : 7,34 спайк/сек) (Рис. 6 Б1) и 9,28 раз (76,96 : 8,29 спайк/сек) (Рис. 6 Б4) соответственно. Характерным является уменьшение процентного долевого соотношения ареактивных мотонейронов в группе *Thymus serpyllum* по сравнению с контролем, как при ВЧС нерва *n. tibialis*, так и *n. peroneus communis* (Рис. 6 В).

Электрофизиологическое исследование активности нейронов латерального вестибулярного ядра, вызванной на стимуляцию седалищного нерва в норме, контроле и в условиях системного введения Нуклео ЦМФ и *Thymus serpyllum* после унилатерального краша седалищного нерва

В нейронах ЛВЯ при стимуляции седалищного нерва зарегистрированы ответы с менее выраженными в группе контроль по сравнению с нормой возбудительными и тормозными компонентами на время тетанизации (ТП, ТД), демонстрируемые на рисунке 7 (оценивается выраженность постстимульного эффекта после вычета престоимпульного спайкинга).

Согласно перистимульным диаграммам нейронов ЛВЯ группы Нуклео ЦМФ, в популяции нейронов, проявляющих ТП-ПТП на ВЧС дистального отрезка поврежденного седалищного нерва, зарегистрировано учащение вызванного спайкового потока в 3,3 раза (23,27 : 7,6) на время тетанизации и 1,6 раз (11,13 : 7,6) на постстимульный временной отрезок. В нейронах, проявляющих ТД-ПТД зарегистрировано урежение вызванного спайкового потока в 2,25 раза (14,03 : 6,22) на время тетанизации и 1,5 раз (14,03 : 9,32) на постстимульный временной отрезок. В нейронах, проявляющих ТД-ПТП зарегистрировано урежение вызванного спайкового потока в 1,93 раза (9,03 : 4,67) на время тетанизации и учащение 1,3 раза (11,84 : 9,03) на постстимульный временной отрезок. В нейронах, проявляющих ТП-ПТД зарегистрировано учащение вызванного спайкового потока в 1,85 раза (19,71 : 10,67) на время тетанизации и урежение 1,6 раз (10,67 : 6,68) на постстимульный временной отрезок. Согласно перистимульным диаграммам нейронов ЛВЯ группы Тимьян, в популяции нейронов, проявляющих ТП-ПТП на ВЧС дистального отрезка поврежденного седалищного нерва, зарегистрировано учащение вызванного спайкового потока в 3,7 раза (12,47 : 3,38) на время тетанизации и 3,4 раза (11,34 : 3,38) на постстимульный временной отрезок.

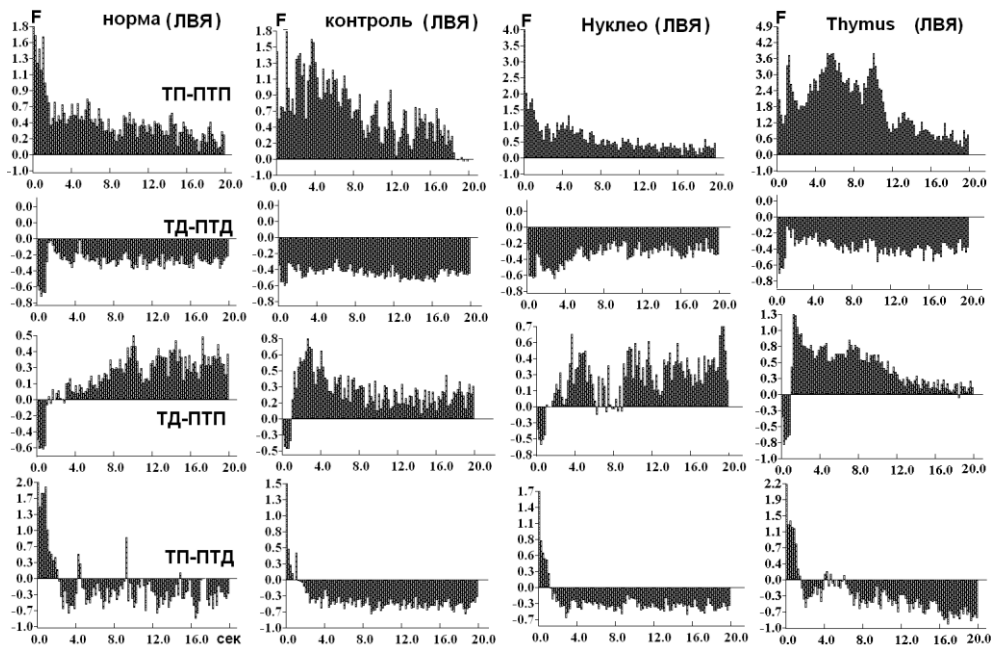


Рисунок 7. Остаточные перистимульные гистограммы ($F=N-n/n$, где N – количество престимульных спайков, n – количество постстимульных спайков и если $n=N$, то $F=0$) для популяций нейронов ЛВЯ с ТП-ПТП, ТД-ПТД, ТД-ПТП, ТП-ПТД ответами на стимуляцию дистального отрезка поврежденного седалищного нерва для групп норма, контроль, Нуклео ЦМФ и *Thymus serpyllum*

В нейронах, проявляющих ТД-ПТД, зарегистрировано урежение вызванного спайкового потока в 2,5 раза (16,75 : 6,76) на время тетанизации и 1,6 раза (16,75 : 10,50) на постстимульный временной отрезок. В нейронах, проявляющих ТП-ПТД, зарегистрировано учащение вызванного спайкового потока в 2,5 раза (41,57 : 16,47) на время тетанизации и урежение в 1,7 раза (16,47 : 9,58) на постстимульный временной отрезок. В нейронах, проявляющих ТД-ПТП, зарегистрировано урежение вызванного спайкового потока в 2,7 раза (12,48 : 4,65) на время тетанизации и учащение 1,5 раза (18,57 : 12,48) на постстимульный временной отрезок. Идентичные/соответственные данные об усредненных показателях постстимульного спайкинга популяций нейронов с соответствующими типами вызванных ответов получены также согласно остаточным, или разностным гистограммам (Рис. 7). Результаты анализа характера и степени выраженности спайковой активности всего массива зарегистрированных нейронов, позволили заключить, что существующий в норме баланс процентного долевого соотношения указанных типов ответов в контрольной группе нарушен с характерным доминированием нейронов, проявляющих ТД-ПТД (50%) на ВЧС седалищного нерва. Согласно процентному долевному соотношению указанных типов ответов в норме на ВЧС седалищного нерва доминируют нейроны с ТД-ПТП (33%) и ТД-ПТД (31%), а в группе Нуклео доминируют нейроны ЛВЯ, проявляющие ответы в виде ТД-ПТД (43%), как и в контрольной группе (50%). В группе *Thymus serpyllum* как и в норме доминируют нейроны ЛВЯ, проявляющие ТД-ПТП (36% и 33% соответственно) и баланс типов ответов в целом соответствует норме. В нейронах ЛВЯ группы

краш-контроль выявлено увеличение соотношения тормозных/возбудительных ответов на время ВЧС дистального участка поврежденного седалищного нерва ($70 / 30 = 2,3$ или ТД-ПТД и ТД-ПТП / ТП-ПТП и ТП-ПТД) по сравнению с таковыми в норме ($64 / 36 = 1,8$). Соотношение тормозных/возбудительных ответов на время ВЧС в группе *Thymus serpyllum* практически соответствует норме ($63 / 37 = 1,7$), а в группе Нуклео ЦМФ – ниже нормы ($58 / 42 = 1,4$).

Морфологическое изучение поврежденного нерва в группах контроль, Нуклео ЦМФ и *Thymus serpyllum*

Согласно результатам морфогистохимических исследований, через 30 дней после раздавливания седалищного нерва в срединном отделе травмы прослеживаются обособленные нервные волокна из проксимального участка, входящие в участок раздавливания: расширенные извилистые трубочки разного калибра наблюдаются в проксимальном и дистальном отделе. Миелинизированные нервные волокна из проксимального отдела, которые частично заполняют участок раздавливания, проявляют волнообразность. В некоторых участках на продольных срезах видны пучки немиелинизированных волокон, имеющих расположение, непараллельное относительно хода основных нервных волокон проксимального отдела. В отдаленных от места травмы участках сохранена характерная для нерва волнообразная слоистость, местами наблюдаются расслоенные, набухшие нервные волокна. В участке травмы наблюдается пролиферация ШК. На срезах нерва животных группы Нуклео ЦМФ (рис. 8 А, Б) в участке травмы наблюдается тенденция морфологического восстановления: отсутствуют пустые Шванновские трубки, прослеживаются тонкие миелинизированные волокна, связывающие дистальные и проксимальные отделы травмы, среди которых расположены непрерывно идущие волокна; из проксимального отдела отходят миелинизированные нервные волокна, заполняющие участок сдавления. Из дистального отдела также прослеживаются миелинизированные пучки. В отдаленных от места травмы участках сохранена характерная для нерва волнообразная слоистость, хотя местами видны расслоенные набухшие нервные волокна (рис. 8 Б). В отличие от интактных животных, у которых волнообразный слоистый пучок нервных волокон подчеркивается уплощенными ядрами ШК, в группе Нуклео ЦМФ ядра ШК округлые (рис. 8 Б). На срезах нерва животных группы *Thymus serpyllum* в участке травмы видны светлые расширенные трубочки разного калибра, для которых характерна волнообразность (рис. 8 В, Г), но тонкие нервные волокна имеют прерывистые участки. В отдаленных от места травмы участках сохранена характерная для нерва волнообразная слоистость, хотя местами видны расслоенные участки, где прослеживаются пустые разного калибра Шванновские трубки (рис. 8 Г), что свидетельствует об отсутствии соединительной ткани между пучками.

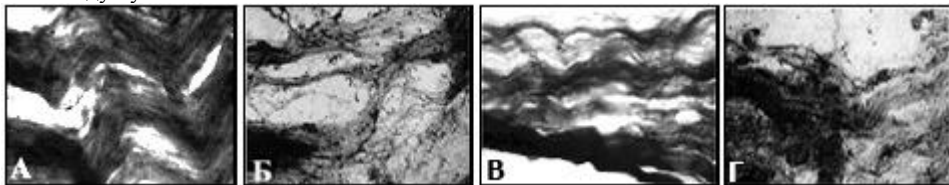


Рисунок 8. Продольные срезы седалищного нерва крысы в группе Нуклео(А, Б) и *Thymus serpyllum* (В, Г) спустя 30 дней после краш-повреждения. Увеличение: 40 (А, В), 100 (Б, Г)

Изучение динамики электрофизиологических показателей воздействия однократной терапевтической дозы Нуклео ЦМФ и *Thymus serpyllum*

Выявленные электрофизиологические критерии нейропротекторной эффективности Нуклео ЦМФ и *Thymus serpyllum* после сдавливания седалищного нерва предусматривали

необходимость изучения возможных механизмов действия. С этой целью проведено электрофизиологическое исследование эффектов однократного в/м введения Нуклео ЦМФ и *Thymus serpyllum* на единичных мотонейронах спинного мозга (Рис. 9 А) и нейронов ЛВЯ (Рис. 9 Б) интактных крыс. Регистрацию фоновой и вызванной спайковой активности осуществляли в динамике (от 5 до 100 минут) после воздействия Нуклео ЦМФ и *Thymus serpyllum*. Кривые изменения престаимпульной (пре-) и постстимульной (пост-) спайковой активности в 4 мотонейронах (Рис. 9 А) демонстрируют повышение частоты с 10-ой до 80-ой минуты после введения Нуклео ЦМФ. Эти же эффекты представлены в виде «растера» спайковой активности одного из мотонейронов, развернутых в реальном времени до (от -20 до 0 сек) и после (от 0 до 20 сек) ВЧС седалищного нерва: очевидно учащение престаимпульного и постстимульного спайкинга нейрона с 10-ой до 80-ой минуты введения Нуклео ЦМФ, что указывает на возбудительные эффекты при однократной инъекции терапевтической дозы Нуклео ЦМФ. Анализ динамики изменений усредненных значений частоты перистимульного спайкинга в 4 нейронах ЛВЯ выявил урежение престаимпульного и учащение постстимульного спайкинга с 40 минуты воздействия Нуклео. Данная тенденция усиливается, и на 80-ой минуте регистрируется предельное занижение престаимпульного спайкинга ($M_{BE}=7,25$ спайк/сек) наряду с возбудительным постстимульным

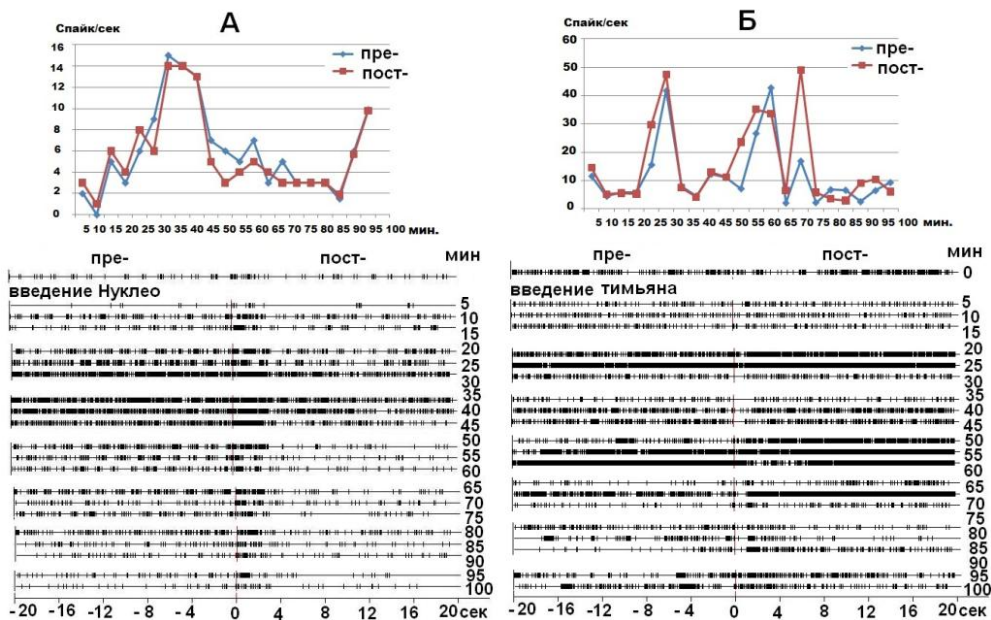


Рисунок 9. Кривые изменения усредненной частоты престаимпульной и постстимульной спайковой активности 4 единичных мотонейронов (А) и 4 единичных нейронов ЛВЯ (Б) в динамике от 0 (исходный уровень) до 100 мин после введения терапевтической дозы Нуклео (0,94 мг/кг) и *Thymus serpyllum* (14 мг/кг). Абсцисса – время воздействия (мин), ордината – частота пре- и постстимульной спайковой активности нейронов (спайк/сек). снизу – развернутая в реальном времени картина спайковой активности мотонейронов (А) и нейронов ЛВЯ (Б) в исходном состоянии (0 мин) и после в/м введения Нуклео ЦМФ и тимьяна. Справа указано на какой минуте после введения регистрировалась активность

ответом ($M_{pe}=36,72$ спайк/сек). Таким образом, при однократном введении терапевтической дозы Нуклео ЦМФ в нейронах ЛВЯ выявлены преимущественно тормозные, а в мотонейронах – возбуждающие эффекты.

После однократной в/м инъекции терапевтической дозы экстракта *Thymus serpyllum* в целом выявлено повышение фоновой и вызванной активности единичных мотонейронов и нейронов ЛВЯ (Рис. 9 Б), указывающее на активацию возбуждающих нейротрансмиттеров.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что краш седалищного нерва характеризуется аномальной синаптической активностью мотонейронов спинного мозга и нейронов ЛВЯ и нарушением баланса возбуждающих/тормозных вызванных ответов. Анализ перистимульных гистограмм средней частоты для мотонейронов в сравниваемых экспериментальных группах норма, контроль, Нуклео ЦМФ и *Thymus serpyllum* позволил заключить: в контроле низкий уровень синаптической активности нейронов, проявляющих тетаническую депрессию на ВЧС *n.tibialis*, компенсируется увеличением их процентного долевого соотношения по сравнению с таковыми в норме. В то же время, при стимуляции *n.tibialis* идентичная выраженность тетанической потенциации в группах краш-контроль и краш-Нуклео компенсируется увеличением их процентного долевого соотношения в группе Нуклео. На ВЧС *n. peroneus communis* выраженность ТП-ППП ответов в группах *Thymus serpyllum* и Нуклео ЦМФ не восстановлена до нормы, однако значительное увеличение доли нейронов с указанными типами ответов, по-видимому, служит организации оптимальной деятельности рефлекторной дуги. Этой же цели служит, по-видимому, высокий уровень тетанической потенциации в мотонейронах с ТП-ПТД ответами на ВЧС *n. peroneus communis*, на фоне уступающего норме долевого соотношения таковых. В леченых группах нейроны с ТД-ППП ответами проявляют соответствующий норме уровень синаптической активности, хотя их доля уступает таковым как в норме, так и в контроле.

В целом, в контроле увеличение доли нейронов ЛВЯ, проявляющих ТД-ПТД ответы на ВЧС поврежденного седалищного нерва, по-видимому, служит показателем компенсаторного приспособления в условиях патологии. Значительная выраженность тетанических и посттетанических возбуждающих ответов в группах Тимьяна и Нуклео (доходящая до или превосходящая таковые в норме) – показатель повышения синаптической активности, способствующей организации сетевой активности в новых условиях компенсаторного приспособления.

Изменение метаболизма фосфатидилхолина было признано в качестве одного из механизмов, запускающих сигнальный каскад апоптоза [Joo J., 2010]. Терапевтический эффект пиримидиновых нуклеотидов обусловлен их способностью: повышать синтез фосфатидилхолина – главного компонента нейрональных мембран; активизировать синтез мембранных фосфолипидов, ведущих к регенерации аксонов и синапсов; предотвращать генерацию свободных радикалов и инициацию событий провоспалительного каскада [Qureshi I. 2010]. В данном изучении Нуклео ЦМФ, благодаря интенсивной метаболической активности комплексного воздействия цитидин монофосфата и уридин трифосфата, очевидно, способствует регенерации миелиновой оболочки (согласно морфогистохимическим данным), регулируя процесс демиелинизации при Уоллеровской дегенерации. В исследованиях с оценкой эффектов нуклеотидной терапии при травматических повреждениях было показано, что Цитиколин предотвращал повреждение тканей в острой фазе сдавления спинного мозга [Coskun C. et al., 2010], зрительного нерва у крыс [Schuetttauf F. et al., 2006.], а также после хирургических операций периферического нерва [Ozay R. et al., 2007], а в модели ишемического повреждения спинного мозга обеспечивал защиту за счет увеличения антиапоптотических белков [Turkkan A. et al., 2010]. В

данном изучении выявлены электрофизиологические параметры однократного воздействия терапевтической дозы Нуклео ЦМФ на мотонейроны поясничного отдела спинного мозга и нейроны ЛВЯ – центров спинального и супраспинального контроля седалищного нерва. Зарегистрированные эффекты Нуклео обусловлены стимулирующим воздействием на систему нейромедиаторов. По-видимому, мишенями воздействия Нуклео ЦМФ выступает каскад энзиматических реакций, ассоциированных с: усилением выделения нреритотрансмиттеров; модуляцией ионных каналов; сенситизацией/десенситизацией постсинаптических рецепторов глутамата и ГАМК; контролем вторичных мессенджеров.

Известно, что флавоноиды поддерживают и восстанавливают жизнедеятельность нейрональных клеток за счет взаимодействия с нейрональными и глиальными внутриклеточными сигнальными путями, а также модулированием периферической и церебральной васкулярной системы, что редуцирует повреждение нейронов нейротоксическими агентами и нейровоспалением [Williams R. et al., 2004]. Хотя не идентифицированы специфические рецепторы действия флавоноидов, имеются некоторые доказательства того, что флавоноиды могут триггировать свое действие, взаимодействуя с ГАМК_A рецепторами ЦНС [Marder M. 2002], с рецепторами инсулиноподобного фактора роста-1 [Lau F. et al., 2005] и глутаматэргическими рецепторами. К тому же, некоторые флавоноиды модулируют ERK(extracellular signal-regulated protein kinase) сигнализацию с последующей активацией CREB (сAMP response element-binding protein), и эти процессы тесно ассоциируются с апрегуляцией нейропротективных путей, включающих индукцию нейротрофических факторов [Williams C. et al., 2008], в частности, именно поэтому, кверцетин (важный компонент флавоноидов) угоркает рост седалищного нерва [Wang W. et al. 2011]. Предполагается, что благотворные эффекты флавоноидов могут осуществляться из-за наличия флавоноид-связывающих участков на нейронах [Bastianetto S. et al. 2010]. Показано, что взаимодействие между флавоноидом и флавоноид-связывающим участком может быть ассоциировано с изменениями статуса активации путей PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase)и нуклеарного фактора- Карра В [Spencer J. 2008; Kim J. et al., 2010]. Эти процессы модулируют высвобождение нейротрансмиттеров и нейрональную сигнализацию [Goyarzu P. et al. 2004], ведущую к изменениям функциональной действственности и коммуникабельности существующих нейронов [Spencer J.P. 2009].

Тимол, обычным природным источником которого является также эфирное масло *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) – позитивный аллостерический модулятор ГАМК_A рецепторов человека [Priestley C. et al., 2003]. Окончательные заключения о сущности тимол-связывающих сайтов ГАМК-рецепторов еще не сформированы и считается возможным существование множества сайтов, опосредующих эффекты тимола. Вероятно, расширение возможностей эффектов имеют место через аллостерические участки ГАМК_A-рецепторов, что предоставляет новые пути терапии [Mohammad I. et al., 2001]. Интересно, что, Тимьян проявляет антиоксидантную и антихолинэстеразную активность [Tavares L. et al., 2011] и осуществляет иммунорегуляторные функции на уровне рецепторов и сигнальных путей иммунокомпетентных клеток [Ming-Hua J, et al., 2010].

Немаловажно, что травмой-индуцированная активация брадикинина и эндогенных липидов вызывают сенситизацию полимодальных ноцицепторных нейронов [Di Marzo V. et al., 2002], в десенситизации которых критическая роль отводится транзиторным ванилоидным каналам (TRPV1), активатором которых выступает тимол [Vogt-Eisele A. et al., 2007]. Известно, что флавоноиды подавляют экспрессию гена нуклеарного фактора-Карра В, замедляют выделение фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-1 и NO, демонстрируя широкий диапазон иммуномодуляторных свойств [Hendrics J. et al., 2003; Ramassamy C., 2006]. Возможно именно поэтому при Уоллеровской дегенерации взаимодействие между денервированной ШК дистальной культы и иммунокомпетентными клетками (контролируемыми флавоноидами в составе Тимьяна) служит существенным компонентом установления аксональной регенерации.

К тому же доказанность на основе изучения структурно-активационного взаимоотношения спорсобности флавоноидов ингибировать фагоцитоз миелина макрофагами [Hendrics J. et al., 2003], вероятно, способствует реиннервации путем стимулирования фенотипов рост-поддерживающих ШК [Gordon T. et al., 2003].

В целом, по-видимому, увеличение доли зарегистрированных мотонейронов с ТД-ПТД и ТД-ПТП ответами в группе краш-контроль служит показателем компенсаторного приспособления в нейрональной цепи рефлекторной дуги спинного мозга (с вовлечением мотонейронов и интернейронов) в условиях резкого увеличения количества ареактивных мотонейронов (как следствия Уоллеровской дегенерации). Увеличение (по сравнению с нормой) доли нейронов ЛВЯ с тетанической и посттетанической депрессией, в свою очередь обеспечивает нейропротекторный компонент центрального контроля мотонейронов. Совокупность полученных электрофизиологических данных свидетельствует о повышении функциональных резервов нейронов (спинного мозга и ЛВЯ), подвергшихся дегенеративным изменениям после раздавливания седалищного нерва на фоне профилактического введения *Thymus serpyllum*. Вероятно, благотворный эффект осуществляется благодаря широкому диапазону известных фармакологических свойств флавоноидов, а именно, модулированию: 1) проводимости Ca(2+)-активируемых калиевых каналов [Chung C. et al., 2012], 2) определенных иммунных процессов ингибированием фагоцитоза миелиновых мембран [Hendricks J. et al., 2003] и замедлением формирования простагландина E₂ [Wang J. et al., 2006], 3) роста аксонов [Muscimara S. et al., 2010], 4) протеинкиназ, реактивный кислород и ферментов мембранных фосфолипидов (циклооксигеназ и липооксигеназ) [Sandhar H. et al., 2011], 5) транскрипционных факторов (нуклеарный фактор-Карра В и AP-1) [Farooqui A., 2012; Eghdami A. et al., 2013] и 6) микроглиального ответа [Farooqui A., 2012]. В свою очередь, высокочастотная электрическая стимуляция – широкораспространенный метод для изучения функций нервной системы – применяется для проверки интенсивности/мощности связей между нейронами, для детерминирования шаблонов организации функционирования [Karam C., 2011].

Фармакологическая коррекция деятельности нейрона и эффекты лечебных средств реализуются также через изменения систем внутриклеточной сигнализации, что и выявлено в опытах с изучением изменений электрофизиологических параметров спайковой активности при однократной внутримышечной инъекции терапевтических доз Нуклео ЦМФ и Тимьяна. Если даже лекарство имеет несколько позиций воздействия в организме, в *in vivo* эксперименте можно рассмотреть результирующий (совокупный) эффект [Aston-Jones G., 2000]. После восприятия рецептором сигнала в нейроне возникает каскад цепных метаболических процессов, обеспечивающих активность нейрона. Важную роль в этих процессах играют пусковые ферменты и образующиеся под их влиянием вторичные мессенджеры. Указанные аспекты деятельности нейрона нашли отражение в динамических изменениях спайковой вызванной активности отдельных нейрональных единиц в *in vivo* микроэлектрофизиологических экспериментах.

Совокупность каскадных мембранных и внутриклеточных процессов составляет эндогенную усилительную систему нейрона, которая может обеспечить многократное усиление входного сигнала и возрастание его эффекта на выходе из нейрона. Благодаря этому возможны выявление и реализация слабого сигнала, что имеет особое значение в условиях патологии, при нарушении синаптического проведения.

Полученные нами результаты предлагают гидропонический *Thymus serpyllum* как новый потенциальный представитель, способствующий предотвращению нейродегенерации после краш-повреждения нерва. Получены новые данные, позволяющие заключить, что Тимьян достойный кандидат для дальнейшего многостороннего изучения его нейропротекторных свойств при травматических повреждениях периферических нервов.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены: значительное повышение порога чувствительности поврежденной конечности на электрическое раздражение подошвы на 1 и 30 дни краша седалищного нерва в группе контроль; идентичный уровень восстановления (или чувствительной реиннервации) исходного порога чувствительности поврежденной конечности на электрическое раздражение подошвы на 30 день краша седалищного нерва в группах Нуклео ЦМФ и Тимьян.
2. Выявлены: частичное восстановление показателя моторной функции к 30 дню после краша седалищного нерва в группе контроль; динамика ускоренного восстановления моторного функционального показателя (или моторной реиннервации) с приближением к норме к 30 дню после краша седалищного нерва в группах Нуклео ЦМФ и Тимьян.
3. В группе краш-контроль выявлены электрофизиологические показатели аномальной активности единичных нейронов в виде: а) значительного снижения степени выраженности вызванной активности мотонейронов поясничного отдела спинного мозга при высокочастотной стимуляции дистальных коллатеральных ответвлений поврежденного седалищного нерва, а также дисбаланса типов ответов, характеризуемого наличием ареактивных единиц и относительно равномерным соотношением тормозных / возбуждающих ответов при стимуляции n.tibialis и минимальными изменениями соотношения типов ответов при стимуляции n. peroneus communis, по сравнению с таковыми в норме; б) снижения в нейронах ЛВЯ степени выраженности возбуждающих ответов на время высокочастотной стимуляции дистального участка поврежденного седалищного нерва, а также увеличения соотношения тормозных / возбуждающих ответов по сравнению с таковыми в норме.
4. В группе краш-Нуклео ЦМФ выявлены электрофизиологические показатели активности единичных нейронов в виде: а) отсутствия ареактивности и смягчения дисбаланса типов вызванной активности мотонейронов поясничного отдела спинного мозга при высокочастотной стимуляции дистальных коллатеральных ответвлений поврежденного седалищного нерва, характеризуемого относительно низкой степенью выраженности ответов по сравнению с таковыми в норме; б) соответствующая норме степень выраженности тормозных ответов в нейронах ЛВЯ на время высокочастотной стимуляции дистального участка поврежденного седалищного нерва, с незначительным уменьшением соотношения тормозных / возбуждающих ответов по сравнению с таковыми в норме. Повышение возбуждающей активности единичных мотонейронов, а также занижение фоновой и повышение вызванной активности единичных нейронов ЛВЯ после однократной в/м инъекции терапевтической дозы Нуклео ЦМФ, указывает на стимулирующее воздействие Нуклео ЦМФ на систему возбуждающих и тормозных нейромедиаторов – важный компонент нейрональной пластичности и протекции.
5. В группе краш-Thymus выявлены электрофизиологические показатели активности единичных нейронов в виде: а) высокой степени выраженности ответов в мотонейронах при высокочастотной стимуляции дистальных коллатеральных ответвлений поврежденного седалищного нерва, а также значительного уменьшения ареактивных единиц и доминирования (как и в норме) возбуждающих ответов по сравнению с контролем; б) соответствующего норме баланса тормозных / возбуждающих ответов и выраженности вызванной активности нейронов ЛВЯ при высокочастотной стимуляции дистального отдела поврежденного седалищного нерва. Повышение фоновой и вызванной активности единичных мотонейронов и нейронов ЛВЯ после однократной в/м инъекции терапевтической дозы Thymus serpyllum, указывает на активацию возбуждающих нейротрансмиттеров ЦНС в качестве возможного компонента нейропротекции.

6. В группе краш-контроль спустя 30 дней выявлены морфогистохимические данные о наличии соединительнотканых прослоек между поперечными пучками нервных волокон в участке раздавливания седалищного нерва; в группах Нуклео ЦМФ и Тимьян в эти же сроки в участке раздавливания седалищного нерва выявлено морфологическое восстановление с незначительными отклонениями от нормы в виде формирования пучков обособленных нервных волокон, характеризующихся отсутствием соединительной ткани.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи

1. Chavushyan V. A., Gevorgyan L. R., Sargsyan E. D. The study of neuroprotective effectiveness of *Thymus vulgaris* in compression of the sciatic nerve, «Physiological Mechanisms of Organisms' Functional Regulation» International Jubilee Conference devoted to 130th anniversary of acad. Levon Orbeli, Yerevan 10 – 13 October 2012, p. 121-131
2. Чавушян В. А., Геворгян Л. Р. Изучение нейропротекторной эффективности *Thymus serpyllum* при сдавливании седалищного нерва. В сборнике "Современные направления в исследовании функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга". РАМН и Научный центр неврологии РАМН. 13-14 декабря 2012, с. 426-430
3. Chavushyan V. A., Gevorgyan L. R., Simonyan. K. V. Electrophysiological studies of lateral vestibular nucleus after nucleotide therapy of damaged sciatic nerve. National Academy of Sciences of RA, Electronic Journal of Natural Sciences. 2013, V.2, № 21, p. 93-95
4. Геворгян Л. Р. Электрофизиологическое исследование эффектов однократного применения Нуклео Ц.М.Ф. Всероссийский журнал научных публикаций. 2013, № 3(18), с. 12-15
5. Геворгян Л. Р., Чавушян В. А., Саваян А. А., Даниелян М. А. Изучение нейропротекторной эффективности Нуклео Ц.М.Ф. и тимьяна ползучего при раздавливании седалищного нерва. Медицинская Наука Армении 2013, т. LIII, №2, с. 61-70
6. Чавушян В. А., Саргсян Э. Д., Геворгян Л. Р., Варданян А. П. Исследование нейропротекторной эффективности гидропонического *Thymus* при повреждении седалищного нерва. Вопросы теоретической и клинической медицины 2013, № 8 (85), с. 7-11.
7. Чавушян В. А., Геворгян Л. Р., Симонян К. В. Оценка эффективности нуклеотидной терапии после повреждения седалищного нерва. Физиологический журнал им. И.М. Сеченова 2014, Т.100, № 2, с. 161-176

Тезисы

8. Геворгян Л. Р. Эффективность Нуклео ЦМФ и *Thymus vulgaris* при травматическом повреждении седалищного нерва, I-ая Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», Москва 3-5 июня 2013, с. 21
9. Chavushyan V. A., Gevorgyan L. R., Simonyan K. V. Electrophysiological studies of Lateral Vestibular Nucleus after Nucleotide therapy of damaged sciatic nerve. Abstract Book of Young Scientists' Conference "New Aspects in Molecular Biotechnology and Biochemistry" Yerevan 27-29 июня 2013, с. 18
10. Геворгян Л. Р. Воздействие Нуклео Ц.М.Ф. в центральной нервной системе. Материалы Международного молодежного научного форума "Ломоносов 2013", 8-12 апреля 2013 г., с. 322
11. Chavushyan V. A., Gevorgyan L. R., Simonyan K. V. Assessment of electrophysiological indices of Nucleotide therapy, Abstract Book of Third Jubilee International Conference of Neuroscience and Biological Psychiatry, Yerevan 22-24 Sept. 2013, p. 49-50
12. Chavushyan V. A., Gevorgyan L. R., Simonyan K. V. Effectiveness of Phytotherapy after peripheral nerve injury.. Abstract Book of International Symposium on Neuroscience and Biological Psychiatry "Stress and Behavior", Yerevan 20-21 Sept. 2013, p.9-10

ՆՍՏԱՆՑԱՐԴԻ ԿՐԱՇԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ՆՈՒԿԼԵՈ ՑՄՖ-Ի (NUCLEO CMP) և ՈՒՐՑԻ (THYME) ԱՐԴՑՈՒՆԱՎԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄԸ

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Ծայրամասային նյարդային համակարգի հիվանդությունները կազմում են նյարդային հիվանդությունների մոտավորապես կեսը և ծայրամասային նյարդերի վնասմանը հաջորդող ֆունկցիոնալ անբավարարությունը ունի սոցիալ-տնտեսական հետևանքներ: Նյարդի ֆունկցիոնալ վերականգնման համար վերականգնման արագացումը հանդիսանում է առաջնային և նուկլեոտիդային ու բուսական դեղերի ուսումնասիրությունը մնում է արդիական:

Ուսումնասիրության նպատակն է հանդիսացել առնետների նստանյարդի միակողմանի ճվման պայմաններում Նուկլեո ՑՄՖ-ի և ուրցի էթանոլային էքստրակտի արդյունավետության գնահատումը: Առաջադրված խնդիրները ներառել են նորմայում, Կրաշ-հսկիչ, Կրաշ+Նուկլեո և Կրաշ+ուրց խմբերում ուսումնասիրել: 1) վնասված նյարդի վերականգնման աստիճանը դինամիկայում՝ հիմնվելով շարժողական և զգայական ֆունկցիաների ցուցանիշների վարքային փորձարկման արդյունքների վրա, 2) ողնուղեղի գոտկային բաժնի մոտոնեյրոնների և կողմնային անդաստակային կորիզի նեյրոնների սեպային ակտիվության էլեկտրաֆիզիոլոգիական փոփոխությունները՝ վնասված նստանյարդի հեռադիր կողմնաճյուղերի բարձր հաճախականությամբ խթանման (ԲՀԽ) պայմաններում, 3) նստանյարդի վնասված հատվածը՝ մորֆոհիստոքիմիական եղանակով, ինչպես նաև 4) ինտակտ կենդանիների մոտոնեյրոնների և կողմնային անդաստակային կորիզի նեյրոնների ակտիվության փոփոխությունները Նուկլեո և ուրցի միանվագ թերապևտիկ դեղաչափի միջմկանային ներարկումից հետո:

Հայտնաբերվել են. վնասմանը հաջորդող 1 և 30-րդ օրերում հսկիչ խմբում ոտնաթաթի էլեկտրական խթանման պայմաններում վնասված վերջույթի զգայական շեմի նախնական մակարդակի բարձրացում և այդ ցուցանիշի նշանակալի վերականգնում Կրաշ+Նուկլեո և Կրաշ+ուրց խմբերում: Շարժողական գործառնությունի ցուցանիշի մասնակի վերականգնում կրաշ-վնասումից 30 օր անց հսկիչ խմբում և այդ ցուցանիշի արագացված վերականգնման դինամիկան Կրաշ+Նուկլեո և Կրաշ+ուրց խմբերում:

Կրաշ-հսկիչ խմբում հայտնաբերվել են ողնուղեղի մոտոնեյրոնների և կողմնային անդաստակային կորիզի նեյրոնների անոմալ ակտիվության էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետևյալ ցուցանիշներ. ա) մոտոնեյրոնների հրահրված ակտիվության արտահայտվածության աստիճանի զգալի նվազում՝ վնասված նստանյարդի հեռադիր կողմնաճյուղերի ԲՀԽ պայմաններում; ինչպես նաև պատասխանների տեսակների դիսբալանս (արգելակիչ / դրդիչ պատասխանների հարաբերակցություն), որը բնութագրվում է առեակտիվ միավորների առկայությամբ, արգելակիչ / դրդիչ պատասխանների համեմատաբար միատեսակ հարաբերակցությամբ՝ n.tibialis խթանման ժամանակ և այդ պատասխանների հարաբերակցության նվազագույն փոփոխությամբ՝ n. peroneus communis խթանման ժամանակ՝ նորմայի հետ համեմատած; բ) կողմնային

անդաստակային կորիզի ներդրումների դրդիչ պատասխանների արտահայտվածության աստիճանի նվազում՝ վնասված նստանյարդի ԲՀԽ պայմաններում, ինչպես նաև արգելակիչ/դժդիչ պատասխանների հարաբերակցության մեծացում՝ նորմայի հետ համեմատած: Կրաշ+Նուկլեո խմբում հայտնաբերվել են ներդրումների ակտիվության էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետևյալ ցուցանիշներ. ա) առեակտիվության բացակայություն և մոտոներյունների հրահրված ակտիվության տեսակների անհամամասնության մեղմացում, որը բնութագրվում է պատասխանների արտահայտվածության համեմատաբար ցածր աստիճանով՝ համեմատած այդպիսիների հետ նորմայում, բ) վնասված նստանյարդի հեռադիր հատվածի ԲՀԽ պայմաններում՝ կողմնային անդաստակային կորիզի ներդրումներում արգելակիչ պատասխանների նորմային համապատասխանող արտահայտվածության մակարդակ: Կրաշ+ուրց խմբում հայտնաբերվել են ներյունների ակտիվության էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետևյալ ցուցանիշներ. ա) մոտոներյուններում պատասխանների արտահայտվածության բարձր աստիճան, ինչպես նաև առեակտիվ ներյունների քանակի զգալի նվազում և դրդիչ պատասխանների գերակշռում (ինչպես և նորմայում)՝ համեմատած հսկիչ խմբի հետ; բ) կողմնային անդաստակային կորիզի ներյունների նորմային համապատասխանող հրահրված ակտիվության արտահայտվածություն և պատասխանների տեսակների հաշվեկշիռ:

Կրաշ-հսկիչ խմբում 30 օր անց մորֆոհիստոքիմիական տվյալները վկայում են նստանյարդի վնասված հատվածում նյարդային հյուսվածքի լայնակի փնջերի միջև շարակցահյուսվածքային շերտերի առկայության մասին: Կրաշ+Նուկլեո և Կրաշ+ուրց խմբերում այդ նույն ժամկետներում նստանյարդի վնասված հատվածում դիտվում է նորմայից աննշան շեղումներով մորֆոլոգիական վերականգնում՝ առանձին նյարդաթելերի փնջերի գոյացում, որը բնութագրվում է վնասված հատվածում շարակցահյուսվածքային շերտերի բացակայությամբ:

Նուկլեո միանվագ թերապևտիկ դեղաչափի միջմկանային ներարկումից հետո մոտոներյունների դրդիչ ակտիվության բարձրացում, կողմնային անդաստակային կորիզի ներյունների հրահրված ակտիվության բարձրացում և ֆոնային ակտիվության նվազում, որը վկայում է Նուկլեո ՑՄՖ-ի խթանող ազդեցության մասին դրդիչ և արգելակիչ նյարդամիջնորդանյութերի համակարգի վրա, որը հանդիսանում է նյարդային պլաստիկականության և նյարդապաշտպան հատկության կարևոր բաղադրամաս: Ուրցի միանվագ թերապևտիկ դեղաչափի միջմկանային ներարկումից հետո մոտոներյունների և կողմնային անդաստակային կորիզի ներյունների ֆոնային և հրահրված ակտիվության բարձրացում, ինչը վկայում է կենտրոնական նյարդային համակարգի դրդիչ նյարդամիջնորդանյութերի ակտիվացման մասին:

Ստացված տվյալները ընդլայնում են նստանյարդի վնասվածքով հարուցված նյարդադեգեներացիայի կանխարգելման և բուժման նպատակով նոր դեղամիջոցների փնտրտուկի հնարավորությունները: Աշխատանքում ցույց է տրված նստանյարդի կրաշ-վնասվածքի բուժման այլընտրանքային արդյունավետ եղանակի ընտրման հնարավորությունը:

LILIYA GEVORGYAN

ASSESSMENT OF EFFECTIVENESS NUCLEO CMP AND THYME AFTER SCIATIC NERVE CRUSH

S U M M A R Y

Diseases of the peripheral nervous system are the second largest disease with temporary disability and they are almost half of neurologic morbidity in the adult population. Acceleration of nerve regeneration is the key to functional recovery and studying of the effects of nucleotide and herbal medicines remains relevant.

The aim of the study was to estimate the therapeutic efficacy of Nucleo CMP and ethanol extract of thyme after unilateral crush (or compression) of the rats' sciatic nerve. The tasks involved in norm, crush (control), Nucleo CMP (positive control) and thyme groups study 1) the dynamics and degree of recovery of damaged nerve on based behavioral testing the parameters of motor and sensory function, 2) electrophysiological changes of spike activity of single motoneurons of lumbar region of the spinal cord and lateral vestibular nucleus by high-frequency stimulation of distal collateral branches of injured sciatic nerve, 3) injured part of sciatic nerve by morphohistochemical methods, as well as 4) the changes of activity of motoneurons and neurons of lateral vestibular nucleus on intact rats before and after i/m administration a therapeutic doses of Nucleo CMP and Thyme.

Revealed: an increase of injured extremity's initial level of sensitivity threshold to electrical stimulation on 1 and 30 days after crush in control group and significant recovery of identical level in crush+Nucleo and crush+Thyme groups; partial recovery of motor function on the 30th day after crush injury in the control group and dynamics of accelerated recovery approaching the norm in crush+Nucleo and crush+Thyme groups.

In crush-control group were revealed following electrophysiological data of abnormal activity of motoneurons of the spinal cord and neurons of lateral vestibular nucleus: a) a significant reduction in expression of induced activity of motoneurons by High-frequency stimulation of distal collateral branches of injured sciatic nerve, as well as an imbalance of response types (ratio of the inhibitory / excitatory responses), characterized by the presence of areactive units and relatively uniform ratio of the inhibitory / excitatory responses by stimulation of n.tibialis and minimal changes of the ratio of response types by stimulation of n. peroneus communis compared with those in normal group; b) reduction in expression of excitatory

responses of neurons of lateral vestibular nucleus by high-frequency stimulation of sciatic nerve, as well as increasing the ratio of the inhibitory / excitatory responses compared with those in normal. In crush+Nucleo group revealed following electrophysiological data of activity of single neurons: a) lack of areactivity and reduction of imbalances types of induced activity of motoneurons characterized by a relatively low level of expression of responses compared with those of normal; b) expression of inhibitory responses of neurons of lateral vestibular nucleus by High-frequency stimulation of the distal portion of injured sciatic nerve corresponding norm In crush+Thyme group revealed following electrophysiological data of activity of single neurons: a) high level of response's expression of motoneurons and a significant decrease of areactive units and dominance (as in normal) of excitatory responses compared to control group; b) balance types and expression of induced spike activity of neurons of lateral vestibular nucleus corresponding norm.

After 30 days in crush-control group is revealed a lack of a morphohistochemical connective tissue layers between the transverse beams of nerve fibers at the crushing site of the sciatic nerve; morphological recovery is revealed at the same site of sciatic nerve with insignificant deviations from the norm as forming separate bundles of nerve fibers which are characterized by the absence of connective tissue between the discontinuous portions in crush+Nucleo and crush+Thyme groups in the same period.

Increasing the excitatory activity of single motoneurons, as well as reduction of the background and enhance the activity of single neurons of lateral vestibular nucleus after i / m injection of a therapeutic dose of Nucleo CMP, indicating its stimulating effect on a system of excitatory and inhibitory neurotransmitters which is an important component of neuronal plasticity and protection. Increasing background and reduced activity of single motoneurons and neurons of lateral vestibular nucleus after i / m injection a therapeutic dose of the extract Thymus serpyllum, indicating activation of excitatory neurotransmitter of the central nervous system.

Received data are expanding possibilities to search new medicines for treatment patients with sciatic nerve injury. Was shown alternative effective method for selection of treatment of sciatic nerve injury.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Eg. Nucleo' or similar, written in a cursive style.