

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ ՄԱՐԳԱՐԻՏԱ ՌՈԲԵՐՏԻ

ԱՄՖԵՏԱՄԻՆՈՎ ՄԱԿԱԾՎԱԾ ԱՌՆԵՏԻ ԵՐԿԲԵՎԵՌԻ ԽԱՆԳԱՐՄԱՆ ՄՈԴԵԼՈՒՄ
LBC1 ՊՐՈԲԻՈՏԻԿՆԵՐԻ ԿՈՄՊԼԵՔՍԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂԻ L-ԱՐԳԻՆԻՆԻ
ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Գ.00.04 – «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2019

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

ОГАННИСЯН МАРГАРИТА РОБЕРТОВНА

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА ПРОБИОТИКОВ LBC1 НА МЕТАБОЛИЗМ L-АРГИНИНА В МОЗГЕ
КРЫС В МОДЕЛИ АМФЕТАМИН-ИНДУЦИРОВАННОГО БИПОЛЯРНОГО
РАССТРОЙСТВА

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности
03.00.04 – “Биохимия”

ЕРЕВАН – 2019

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար՝
Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

Կենս. գիտ. թեկնածու Ն.Խ. Ալյուջյան
Կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ. Ռ.Գ. Քամայան
Կենս. գիտ. թեկնածու Լ.Մ. Հովսեփյան
Մ. Հերացու անվան Երևանի պետական
թժշկական համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2019թ. դեկտեմբերի 18-ին, ժամը 12⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտում, 042 մասնագիտական խորհրդում (ՀՀ, 0014, ք. Երևան, Հասրաթյան 7):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի գրադարանում և <http://molbiol.sci.am> կայքում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2019թ. նոյեմբերի 6-ին:

042 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
Կենս. գիտ. թեկնածու



Գ.Մ. Սկրտչյան

Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета Института биохимии им. Г. Бунятына НАН РА.

Научный руководитель:
Официальные оппоненты:

кандидат биол. наук Алчуджян Н.Х.
доктор биол. наук, проф. Камалян Р.Г.
кандидат биол. наук Овсепян Л.М.

Ведущая организация:

Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци

Защита диссертации состоится 18 декабря 2019г. в 12⁰⁰ часов на заседании специализированного совета 042, в Институте молекулярной биологии НАН РА (РА, 0014, г. Ереван, ул. Асратяна 7).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института молекулярной биологии НАН РА и на сайте <http://molbiol.sci.am>.

Автореферат разослан 6 ноября 2019г.

Ученый секретарь специализированного совета 042,
кандидат биол. наук

Մկրտչյան Գ.Մ.



ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Աշխատանքի արդիականությունը: Երկբևեռ խանգարումը (ԵԽ) բնութագրվում է մտամոլորության և ընկճվածության պարբերական տատանումներով, որոնք ընդմիջվում են ռեմիսիայով (Soares J.C. et al., 2007): Վերջին տարիներին ԵԽ հիվանդների թիվը շարունակում է աճել ու բերում է հաշմանդամության և մահացության աճի, իսկ հիվանդների ավելի քան 15 %-ը ինքնասպանություն են գործում (Medici C.R., 2016; Kim Y. et al., 2017): ԵԽ հիվանդների կեսից ավելին չեն ենթարկվում ավանդական բուժման, իսկ դեղորայքները առաջացնում են կողմնակի էֆեկտներ և բարդացնում են հիվանդության ընթացքը (Blanco C. et al., 2017): Ըստ ժամանակակից տվյալների ԵԽ ախտաբանության մեջ նյարդափոխադրման խախտումների հետ մեկտեղ կարևոր դեր են խաղում օքսիդատիվ սթրեսը, միտոքոնդրիումների դիսֆունկցիան, բորբոքումը և փոխկապված միկրոբիոտայի տեղաշարժերը (Data-Franco J. et al., 2017; Dickerson F. et al., 2017): Աղիների միկրոբիոտան փոխազդում է կենտրոնական նյարդային համակարգի հետ թափառող նյարդի, իմունային համակարգի ու նյարդահաղորդիչների միջոցով և ազդում տրամադրության ու կոգնիտիվ ֆունկցիաների վրա (Latalova K. et al., 2017): Միկրոբիոտայի խախտումները կարող են կարգավորվել պրոբիոտիկների՝ կենդանի օգտակար մանրէների միջոցով, որոնք դրսևորում են հոգեկարգավորիչ ազդեցություն և կարող են օգտագործվել աֆեկտիվ հիվանդությունների թերապիայում (Park C. et al., 2018; Huang H.H. et al., 2019):

Պրոբիոտիկները կարգավորում են միկրոբիոտան և իմունային պատասխանը և դրա հետ փոխկապված L-արգինինը նյութափոխանակող արգինազը և ազոտի օքսիդի սինթազը (NOS), որոնք մասնակցում են նեյրոտրանսմիսիայի և ԵԽ մեխանիզմներում (Liu P. et al., 2016; Ghasemi M. et al., 2018): NOS-ը սինթեզում է L-արգինինից նոր սերնդի նյարդահաղորդիչ՝ NO, որը կարգավորում է մոնոամինային նեյրոտրանսմիտերների, ագետիլխոլինի, գրգռիչ և արգելակող ամինաթթուների մակարդակները՝ ազդելով նրանց սինթեզի և քայքայման, արտազատման ու հետկլանման պրոցեսների վրա (Philippu A., 2016): NOS/NO գերարտադրությունը և լիպիդների գերօքսիդացումը (LՊՕ) հանգեցնում են նիտրոզատիվ/օքսիդատիվ սթրեսի, միտոքոնդրիումային դիսֆունկցիայի և մասնակցում են ԵԽ ախտաբանության մեջ (Rezin G.T., 2009; Siwek M. et al., 2016): Արգինազը նույնպես կարող է մասնակցել նեյրոտրանսմիսիայի և օքսիդատիվ սթրեսի գործընթացներում NOS-միջնորդավորված և NOS-անկախ ուղիներով (Morris S.M.Jr., 2012): Արգինազի բջջապլազմային Ա1 իզոձևը ուղղորդում է գրգռիչ ամինաթթու գլուտամատի և պրոլինի սինթեզը, իսկ միտոքոնդրիումային Ա2 իզոձևը՝ պոլիամինների սինթեզը, որոնք մասնակցում են սթրես պատասխանին և ԵԽ ախտաբանության մեջ (Cederbaum S.D. et al., 2004; Svinarev V.I. et al., 2007): Արգինազի իզոձևերը ցուցաբերում են հակադիր՝ բորբոքային և հակաբորբոքային ազդեցություն (Caldwell R.W. et al., 2018): Այդ առումով հետաքրքիր է հետազոտել արգինազի ենթաբջջային ակտիվությունը, ինչպես և NOS-ի, քանի որ այդ ֆերմենտները փոխազդում են ու մասնակցում նյարդահաղորդման և իմունային պաշտպանության մեխանիզմներում և կարող են ներգրավվել ԵԽ

ախտաբանության մեջ ու ծառայել որպես թերապևտիկ թիրախ, ինչպես ավանդական հոգեկարգավորիչների, այնպես էլ պրոբիոտիկների համար, սակայն այդ հարցերը մինչ օրս համարյա ուսումնասիրված չեն:

Աշխատանքի նպատակն ու խնդիրները: Աշխատանքի նպատակն է առնետի երկբևեռ խանգարման (ԵԽ) մոդելում ուսումնասիրել ուղեղի L-արգինինի նյութափոխանակությունը և նոր LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի և ավանդական հոգեկարգավորիչ վալպրոատի ազդեցությունը վարքի և L-արգինինի նյութափոխանակության վրա: Այդ նպատակի իրականացման համար դրվել են հետևյալ խնդիրները՝

1. մշակել ամֆետամինով մակածված առնետի ԵԽ մոդել՝ վարքային բնութագրի գնահատմամբ, բաց դաշտ և բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս թեստերով, տարբեր ժամանակահատվածներում (60 րոպե, 1 օր, 7 օր, 14 օր, 21 օր),

2. նշված ժամանակահատվածներում ուղեղի կեղևալիմբային համակարգի բաժիններում՝ նախաճակատային կեղևում, զոլավոր մարմնում, հիպոկամպում ու հիպոթալամուսում ուսումնասիրել՝

- արգինազի ակտիվությունը բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում,
- ազոտի օքսիդի սինթազի (NOS) ակտիվությունը բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում,
- լիպիդների գերօքսիդացման արգասիք՝ մալոնային դիալդեհիդի, պարունակությունը հոմոգենատներում,

3. ԵԽ մոդելում ուսումնասիրել LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (*Lactobacillus rhamnosus* B-7701, *Lactobacillus salivarius* BKPM B-6778, *Lactobacillus plantarum* ԿՄՄՄ B-2353, *Lactobacillus acidophilus* ՄԻՄՄԱ 9602, *Bifidobacterium bifidum* BKPM AC-1666, և *Escherichia coli* M17) ազդեցությունը.

- վարքային բնութագրի վրա բաց դաշտ և բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս թեստերով տարբեր ժամանակահատվածներում (60 րոպե, 1 օր, 7 օր, 14 օր, 21 օր),

նշված ժամանակահատվածներում ուղեղի կեղևալիմբային համակարգի բաժիններում՝ նախաճակատային կեղևում, զոլավոր մարմնում, հիպոկամպում ու հիպոթալամուսում

- արգինազի ակտիվության վրա բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում,
- ազոտի օքսիդի սինթազի (NOS) ակտիվության վրա բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում,
- լիպիդների գերօքսիդացման արգասիք՝ մալոնային դիալդեհիդի պարունակության վրա հոմոգենատներում,

4. ԵԽ մոդելում ուսումնասիրել վալպրոատի ազդեցությունը.

- վարքային բնութագրի վրա բաց դաշտ և բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս թեստերով տարբեր ժամանակահատվածներում (60 րոպե, 1 օր, 7 օր, 14 օր, 21 օր),

նշված ժամանակահատվածներում ուղեղի կեղևալիմբային համակարգի բաժիններում՝ նախաճակատային կեղևում, զոլավոր մարմնում, հիպոկամպում ու հիպոթալամուսում

- արգինազի ակտիվության վրա բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում,

- ազոտի օքսիդի սինթազի (NOS) ակտիվության վրա բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում,
- լիպիդների գերօքսիդացման արգասիք՝ մալոնային դիալդեհիդի պարունակության վրա հոմոգենատներում:

Աշխատանքի գիտական նորույթը: Ամֆետամինով (AMPH)-մակաձված առնետի ԵՄ մոդելում ուղեղի կեղևային համակարգի բաժիններում՝ նախաճակատային կեղևում, զուլավոր մարմնում, հիպոկամպում և հիպոթալամում, բացահայտվել են արգինազի և NOS-ի ենթաբջջային ակտիվության ժամանակ-կախյալ տեղաշարժեր, որոնք ասոցացվում են վարքի փոփոխությունների հետ: Բացահայտվել է, որ AMPH-ի ներմուծման կուրսից 60 րոպե հետո՝ առնետների գերակտիվ վարքը ուղեկցվում է NOS-ի և արգինազի իզոնև Ա1-ի՝ բջջապլազմայում, և արգինազի իզոնև Ա2-ի՝ միտոքոնդրիումներում, ակտիվության աճով: Յուցադրվել է նաև, որ AMPH-ի ներմուծումից 7 օր հետո դիտվող ընկճվածությունը ուղեկցվում է NOS-ի ենթաբջջային ակտիվության անկումով: AMPH-ի ներմուծումներից 21 օր հետո բացահայտվել է արգինազի և NOS-ի ենթաբջջային ակտիվության, ինչպես նաև լիպիդների գերօքսիդացման պրոցեսների խթանում, որոնք կարող են նախորդել գրգռման և գերակտիվության գործընթացներին:

AMPH-մակաձված ԵՄ մոդելում ցուցադրվել է մեր կողմից կազմած նեյրոակտիվ և հակասնկային հատկություններով LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) կարգավորիչ ազդեցությունը առնետների ժամանակ-կախյալ վարքի տարբեր դրսևորումների և աղիների միկրոբիոտայի վրա, որը բացահայտվել է նաև ավանդական հոգեկարգավորիչ վալպրատի ազդեցության ներքո: Միաժամանակ հետազոտվող ժամանակահատվածներում բացահայտվել է LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի և վալպրատի միջամտող բուժման ռեգիոն կախյալ ազդեցությունը L-արգինինի ենթաբջջային նյութափոխանակության և լիպիդների գերօքսիդացման վրա ուղեղի կեղևային մարմնի համակարգի բաժիններում վարքի տարբեր դրսևորումների ժամանակ:

Գիտակիրառական նշանակությունը: Ստացված արդյունքները վկայում են ԵՄ ախտաբանության մեջ L-արգինինի ենթաբջջային նյութափոխանակության տեղաշարժերի մասնակցության մասին ուղեղի կեղևային մարմնի համակարգի բաժիններում և ընդլայնում պատկերացումները դրա վերաբերյալ և հնարավորություն են տալիս նոր մոտեցումներ մշակելու: ԵՄ ընթացքի և բուժման գնահատման գործում, ինչպես նաև արգինազի իզոնևերը և NOS-ը կլինիկայում օգտագործելու որպես թերապևտիկ թիրախ: Այդ առումով հեռանկարային է նաև LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի հետազոտումը կլինիկայում՝ ԵՄ լրացուցիչ թերապիայում ներդնելու՝ բուժման արդյունավետությունը բարձրացնելու և կանխելու դեղորայքային կողմնակի էֆեկտները:

Ատենախոսության նախնական փորձարկումը: Ատենախոսության նյութը և հիմնական բովանդակությունը ներկայացվել են միջազգային գիտաժողովներում. International Young Scientists Conference “Perspectives for Development of Molecular and Cellular Biology”-4, Yerevan, Armenia, October 21-22, 2013; Международная молодежная конференция “Инновационные подходы в области науки”: Цахкадзор, Армения, 5-7

декабря, 2014; International Young Scientists Conference dedicated to the 50th Anniversary of the Institute of Molecular Biology NAS RA “New trends in life science”, Yerevan, Armenia, September 26-28, 2016; VII Всероссийская неделя науки с международным участием “Week of Russian Science - 2018”, посвященная “Всемирному дню здоровья” 2018; II International conference AAB and FEBS “Women achievements in biological sciences” Yerevan, Armenia, 10-12 October, 2017 և զեկուցվել է ՀՀ ԳԱԱ Հ.Բունիաթյանի անվ. կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտական խորհուրդի ընդլայնված նիստում՝ 2019 թ. սեպտեմբերի 17-ին:

Հրատարակված գիտական աշխատանքները: Ատենախոսության աշխատանքի թեմայով հրատարակվել է 8 գիտական հոդված և 4 աշխատություն միջազգային գիտաժողովներում:

Ատենախոսության ծավալը և կառուցվածքը: Աշխատանքը շարադրված է 104 էջի վրա, պարունակում է 4 աղյուսակ, 24 նկար: Գրականության ցանկը ներառում է անգլերեն և ռուսերեն լեզուներով 232 անվանում: Ատենախոսությունը բաղկացած է հապավումների ցանկից, ներածությունից, գրական ակնարկից, փորձարարական մասից, հետազոտության արդյունքներից, քննարկումից, վերջաբանից, եզրակացություններից և գրականության ցանկից:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

Հեթազոտության սխեման: 2-3 ամսական 150-200 գ քաշով սպիտակ արու առնետները բաժանվել են խմբերի ($n=18/\text{խումբ}$). Ստուգիչ - առողջ; ԵԽ – AMPH-ի աճող դոզաների՝ 2-6 մգ/կգ 18 ներարկում՝ առնետներին ամենօրյա 0.2 մլ AMPH միանված ներմկանային ներարկմամբ; ԵԽ/LBC1 ՊԿ –մշակված LBC1 ՊԿ-ով՝ ամենօրյա ներմուծմամբ՝ 1 մլ (6×10^9) ԳՁՄ/մլ; ԵԽ/VPA – մշակված դեպակինով (ակտիվ նյութը՝ VPA)՝ ամենօրյա VPA ներմուծմամբ՝ 200 մգ/կգ քաշի: Պրեպարատները ներմուծվել են per os AMPH-ի հետ զուգահեռ ներարկումների կուրսի կեսից սկսած մինչև ավարտը: Գլխատվելուց առաջ կատարվել է վարքագծային բնութագրի հետազոտություն:

Վարքային բնութագիրը: Շարժողական, հետազոտական-կողմնորոշիչ ակտիվությունը, գրումինգը՝ մաքրման ակտերը, դեֆեկացիոն բոլումները ու դիսկային վարքը գնահատվել են բաց դաշտ (ԲԴ) և բարձրացված խաչածն լաբիրինթոս (ԲԽԼ) թեստերով (Augustsson H., Meyerson B., 2004; Бурев Я. и др., 1991):

Սկրեբոտիկային վարքը գնահատվել է ըստ Կոստալի (Costall B. et al., 1972):

Միկրոկենսաբանական քննությունը կատարվել է ըստ ստանդարտ լաբորատոր ուղեցույցների:

Կենսաբանական նյութի ստացումը: Գլխուղեղից անջատվել են ՆՃԿ-ը, ՋՄ-ը, ՀԿ-ը և ՀԹ-ը ու հոմոգենիզացվել սառը 20 մՄ HEPES բուֆերում, որը պարունակում է 0.25 Մ սախարոզ, 2 մՄ դիթիոտրեիտոլ, pH 7.4 (1:10 կլիմ/ծավալ):

Գլխուղեղի միտոքոնդրիումներն ու բջջապլազման անջատվել են դիֆերենցիալ ցենտրիֆուգման միջոցով (Дижке Г.П., 2003):

Արգինազի ակտիվության որոշումը: Նմուշները ինկուբացվել են 37°C 1 ժ 20 մՄ HEPES բուֆերում՝ պարունակող 2 մՄ դիթիոտրեիտոլ, pH 7.4, որին ավելացվել են 0.2 Մ L-արգինին·HCl, 0.05 Մ MnCl₂·4H₂O, ռեակցիան կանգնեցվել է 10 %-ng ԵՔԹ-ով, նմուշները ցենտրիֆուգվել են 15000 պ/ր, 3 ր և սպիտակուցազուրկ վերնստվածքում որոշվել է առաջացած L-օրնիտինի քանակը (Iyamu E.W. et al., 2008):

Արգինազի ակտիվությունը արտահայտվել է մկմոլ L-օրնիտին/մգ սպիտակուց/ժ:

L-օրնիտինի պարունակության որոշումը կատարվել է սպիտակուցազուրկ վերնստվածքում՝ 4.5 %-ng նինհիդրինով (90°C 25ր) ու նմուշներում կլանումը չափվել է 505 նմ ալիքի երկարությամբ (Iyamu E.W. et al., 2008): Օրնիտինի քանակը հաշվարկվել է L-օրնիտինի ճշգրտման կորով:

Ազոտի օքսիդի սինթազի ակտիվության որոշումը: Նմուշներն ինկուբացվել են 22 ժ 37°C՝ 20 մՄ HEPES բուֆերում՝ պարունակող 2 մՄ դիթիոտրեիտոլ, pH 7.4, որին ավելացվել են 0.2 Մ L-արգինին·HCl, 0.2 մՄ NADPH, 6 մկՄ FAD, 5.5 մկՄ FMN, 20 մկՄ (6R)-5,6,7,8-տետրահիդրո-L-բիոպտերինդիհիդրոքլորիդ (Gagnon C. et al., 1998): Ռեակցիան կանգնեցվել է 0.5 Մ NaOH և 10 %-ng ZnSO₄ ավելացմամբ, նմուշները ցենտրիֆուգվել են 15000 պ/ր, 3 ր ու սպիտակուցազուրկ վերնստվածքում որոշվել է NO-ի կայուն մեթաբոլիտների՝ նիտրիտների, պարունակությունը: NOS-ի ակտիվությունն արտահայտվել է՝ նմոլ (NO₂)/մգ սպիտակուց/22 ժ:

NO-ի կայուն մեթաբոլիտների պարունակության որոշումը կատարվել է սպիտակուցազուրկ վերնստվածքում՝ Գրիս-Իլոսվայի ռեակտիվով (0.17% սուլֆանիլաթթու, 0.05 % α -նաֆտիլամին, 12.5 % քացախաթթու) ու նմուշներում կլանումը չափվել է 546 նմ ալիքի երկարությամբ (Schmidt H.H.H.W. et al., 1996): Նիտրիտների կոնցենտրացիան հաշվարկվել է NaNO₂-ի ճշգրտման կորով:

Մալոնային դիալդեհիդի որոշումը: Լիպիդների գերօքսիդացման կայուն արգասիք՝ մալոնային դիալդեհիդի (ՄԴԱ) քանակը որոշվել է սպիտակուցազուրկ հոմոգենատներում և հաշվարկվել է ՄԴԱ-թիոբարբիտուրային թթվի կոմպլեքսի մոլյարային էկստինկցիայի գործակցի ($1.56 \cdot 10^{-5} \text{ M}^{-1} \cdot \text{սմ}^{-1}$) միջոցով (Buege J.A., 1978):

Սպիտակուցը որոշվել է Լոուրիի մեթոդով (Lowry O.H. et al., 1951):

Վիճակագրական վերլուծությունը իրականացվել է պարամետրիկ միագործոն դիսպերսիոն անալիզի (one-way Anova) և Հոլմ-Սիդակի հետդիսպերսիոն թեստի միջոցով (Sigma Stat 3.5 for Windows): Տվյալները ներկայացվել են միջին (M) \pm ստանդարտ սխալի միջինը (SEM): Հավաստիության չափանիշը ընդունվել է $p < 0.05$:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի ու վալպրոատի ազդեցությունը առնետների վարքի վրա ամֆետամինով մակաձված երկբևեռ խանգարման մոդելում:

Մշակվել է ամֆետամինի (AMPH) աճող դոզաներով մակաձված առնետի ԵՄ մոդել (Einat H. et al., 2007): AMPH-ի ներմուծման ավարտին դիտվում է գերակտիվություն, իսկ AMPH-ի բարձր դոզաների դեպքում՝ ստերետոսիայային վարք; 1-

7 օր հետո՝ ճնշված ակտիվություն, որը կարգավորվում է 21 օր հետո: AMPH-ի ներմուծումից 60 րոպե հետո գերակտիվության ժամանակ բաց դաշտ (ԲԴ) և բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս (ԲԽԼ) թեստերում դիտվում է շարժողական, հետազոտական-կողմնորոշիչ ակտիվությունների ու ռիսկային վարքի խթանում, միաժամանակ նվազում է գրոմինգը՝ վկայելով տազնապային/հուզական վիճակի մասին՝ բնորոշ գերակտիվության և գրգռմանը՝ ԿՆՀ-ում (Мамылина Н.В., 2011):

LBC1 ՊԿ և VPA կանխում են ստերեոտիպիան ու նվազեցնում գերակտիվությունը, սակայն VPA-ը եռակի ճնշում է կանգերի թիվը՝ ԲԴ-ում և չի կանխում ռիսկային վարքի խթանումը՝ ԲԽԼ-ում (աղ. 1, 2):

Աղյուսակ 1. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը առնետների վարքի վրա “Բաց դաշտ” թեստում գերակտիվության ժամանակ

Խումբ	Շարժողական ակտիվություն (սեկտորների թիվ)	Հետազոտական-կողմնորոշիչ ակտիվություն (կանգերի թիվ)	Գրոմինգ (մաքրման ակտերի թիվ)	Դեֆեկացիա (բոլումների թիվ)
Ստուգիչ	25.9 ± 2.7	7.8 ± 0.67	3.7 ± 0.42	1.7 ± 0.18
AMPH	116.9 ± 14.4 ***	16.8 ± 1.43 *	0.1 ± 0.02 **	0.5 ± 0.06 #
AMPH/ ՊԿ	44.6 ± 4.5 **	8.7 ± 0.9#	0.2 ± 0.04**	1.2 ± 0.09 #
AMPH/ VPA	66.1 ± 5.8 **	2.4 ± 0.29 **	0.3 ± 0.02 **	1.5 ± 0.14 #

Այստեղ և ստորև աղյուսակներում արդյունքները ներկայացված են, որպես $M \pm SEM$, $n=18$ և դրանց հավաստիությունը (p) գնահատվել է ստուգիչի համեմատ: Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Աղյուսակ 2. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը առնետների վարքի վրա “Բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոսի” թեստում գերակտիվության ժամանակ

Խումբ	Բաց թևեր մուտքերի թիվ	Փակ թևեր մուտքերի թիվ	Կախերի թիվ	Կանգերի թիվ	Գրոմինգ	Դեֆեկացիա
Ստուգիչ	2.6 ± 0.23	4.9 ± 0.42	3.2 ± 0.29	5.4 ± 0.47	2.6 ± 0.21	1.5 ± 0.13
AMPH	6.7 ± 0.61*	7.4 ± 0.8*	9.8 ± 1.1**	10.6 ± 1.1**	1.0 ± 0.14*	0.9 ± 0.08#
AMPH/ ՊԿ	3.1 ± 0.3#	4.5 ± 0.59#	4.4 ± 0.52#	7.3 ± 0.8#	1.8 ± 0.21#	1.2 ± 0.2#
AMPH/ VPA	3.3 ± 0.41#	4.4 ± 0.5#	6.2 ± 0.74*	4.3 ± 0.52#	1.1 ± 0.19*	0.6 ± 0.04#

$p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

Վարքային ցուցանիշները զգալի նվազում են AMPH-ի ներմուծումից 7 օր հետո՝ վկայելով ընկճված վիճակի մասին, որը կանխարգելվում է LBC1 ՊԿ կողմից, իսկ VPA-ի կողմից՝ ոչ (աղ. 3, 4):

Աղյուսակ 3. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը առնետների վարքի վրա “Բաց դաշտ” թեստում ընկճվածության ժամանակ

Խումբ	Սեկտորների թիվ	Կանգերի թիվ	Գրումինգ	Դեֆեկացիա
Ստուգիչ	25.9 ± 2.7	7.8 ± 0.67	3.7 ± 0.42	1.7 ± 0.18
AMPH	4.1 ± 0.5**	1.1 ± 0.18**	0.5 ± 0.03**	2.5 ± 0.21#
AMPH/ ՊԿ	12.3 ± 1.4**	4.3 ± 0.5*	2.1 ± 0.18#	2.6 ± 0.21#
AMPH/ VPA	3.5 ± 0.4**	2.5 ± 0.28**	0.5 ± 0.03**	3.5 ± 0.29#

$p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

Աղյուսակ 4. LBC1 պրոբիոտիկների կեմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը առնետների վարքի վրա “Բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոսի” թեստում ընկճվածության ժամանակ

Խումբ	Բաց թևեր մուտքերի թիվ	Փակ թևեր մուտքերի թիվ	Կախերի թիվ	Կանգերի թիվ	Գրումինգ	Դեֆեկացիա
Ստուգիչ	2.6 ± 0.23	4.9 ± 0.42	3.2 ± 0.29	5.4 ± 0.47	2.6 ± 0.21	1.5 ± 0.13
AMPH	0.5 ± 0.02**	1.3 ± 0.11*	0.8 ± 0.07*	1.3 ± 0.11**	1.2 ± 0.09#	0.1 ± 0.01**
AMPH/ ՊԿ	2.1 ± 0.19#	2.3 ± 0.21#	4.3 ± 0.39#	4.6 ± 0.39#	0.6 ± 0.05**	0.2 ± 0.03**
AMPH/ VPA	2.5 ± 0.21#	3.1 ± 0.28#	6.1 ± 0.5**	9.5 ± 1.1**	1.1 ± 0.16#	0.3 ± 0.02*

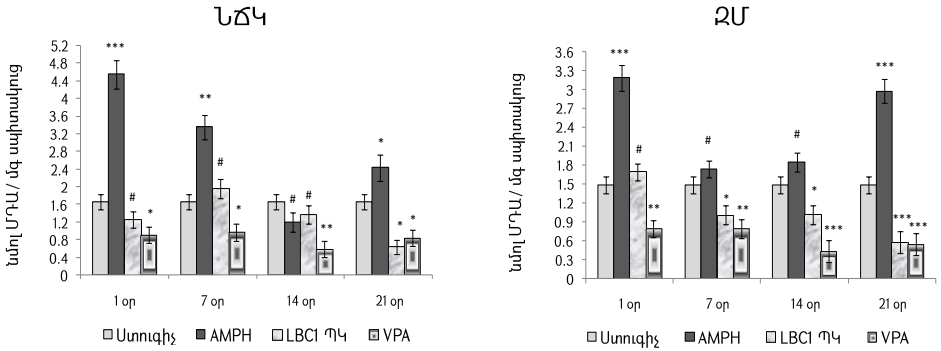
$p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

Վարքային տեղաշարժերը զուգակցվում էին աղիքային միկրոբիոտայի խախտումներով ետ մոդելում: LBC1 ՊԿ և վալպրոատը արգելակում են օպորտունիստական մանրէների, այդ թվում՝ ընկճվածությանը նպաստող *Candida albicans*-ի աճը: Այս շարքում վալպրոատը թույլ էր ճնշում *Staphylococcus aureus*-ի աճը:

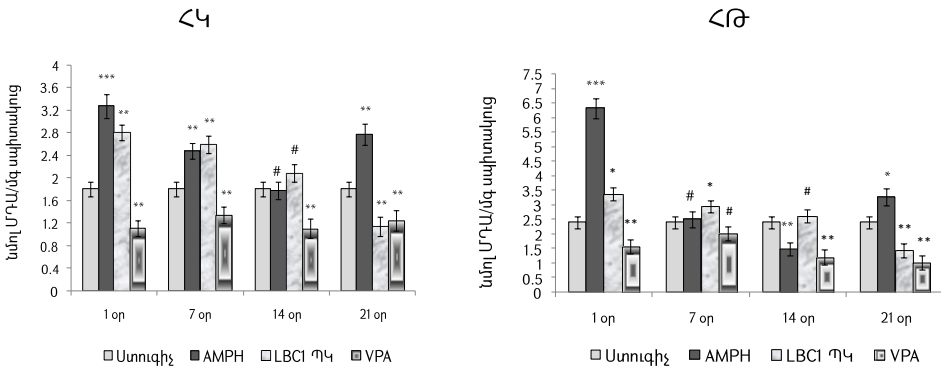
LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի ու վալպրոատի ազդեցությունը ուղեղի լիպիդների գերօքսիդացման վրա առնետի ամֆետամինով մակաձված երկբևեռ խանգարման մոդելում:

ԼԳՕ գործընթացները խթանվում են գլխուղեղի կեղևալիմբային համակարգի բաժիններում AMPH-ի ներմուծման ավարտից 1 և 7 օր հետո, նվազում են 14 օր հետո ու կրկին խթանվում են 21 օր հետո: Ինչպես երևում է 1 և 2 նկարներից, LBC1 ՊԿ և VPA ռեգիոն-կախյալ կանխարգելում են ԼԳՕ պրոցեսները՝ արգելակելով օքսիդային սթրեսը

և դրա հետևանքով առաջացած սպիտակուցների, լիպիդների ու ԴՆԹ/ՌՆԹ-ի վնասվածքները Ես ժամանակ (Poprac P. et al., 2017):



Նկ. 1. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալարոատի (VPA) ազդեցությունը լիպիդների գերօքսիդացման վրա նախաճակատային կեղևում (ՆՃԿ) և զրլավոր մարմնում (ՁՄ) ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի Ես մոդելում: Այստեղ և ստորև գծապատկերներում արդյունքները ներկայացվել են որպես $M \pm SEM$, $n=12-15$ և դրանց տարբերության հավաստիությունը (p) գնահատվել է ստուգիչի համեմատ: Հավաստիության չափանիշը՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$



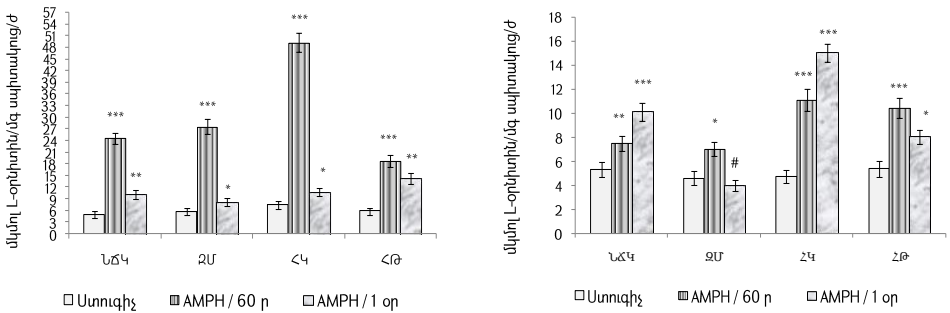
Նկ. 2. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալարոատի (VPA) ազդեցությունը լիպիդների գերօքսիդացման վրա հիպոկամպում (ՀԿ) և հիպոթալամուսում (ՀԹ) ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի Ես մոդելում: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

LBC1 պորբիոտիկների կոմպլեքսի ու վալպրոատի ազդեցությունը ուղեղի արգինազի ենթաբջջային ակտիվության վրա ամֆետամինով մակաձված առնետի երկբևեռ խանգարման մոդելում:

Գերակտիվության ժամանակ բացահայտվել է արգինազի իզոմերների ակտիվություն խթանում ուղեղի բաժիններում՝ բջջապլազմայում՝ Ա1-ը, որը ուղղորդում է գլուտամատի և պրոլինի սինթեզը և միտոքոնդրիումներում՝ Ա2-ը, որը ուղղորդում է պոլիամինների սինթեզը և ներգրավվում են ԵԽ տրամադրության դրսևորումների մեջ, ինչպես նաև օքսիդատիվ պորեսի գործընթացներում՝ NOS-միջնորդավորված և NOS-անկախ ուղիներով (Caldwell R.B. et al., 2019): Նկար 3-ում երևում է, որ AMPH-ի ներմուծման ավարտից 60 րոպե հետո դիտվող խթանումը նվազում է 1 օր հետո, երբ առնետների մոտ դիտվում է ընկճված վարք՝ մնալով ստուգիչից բարձր:

Բջջապլազմա

Միտոքոնդրիումներ



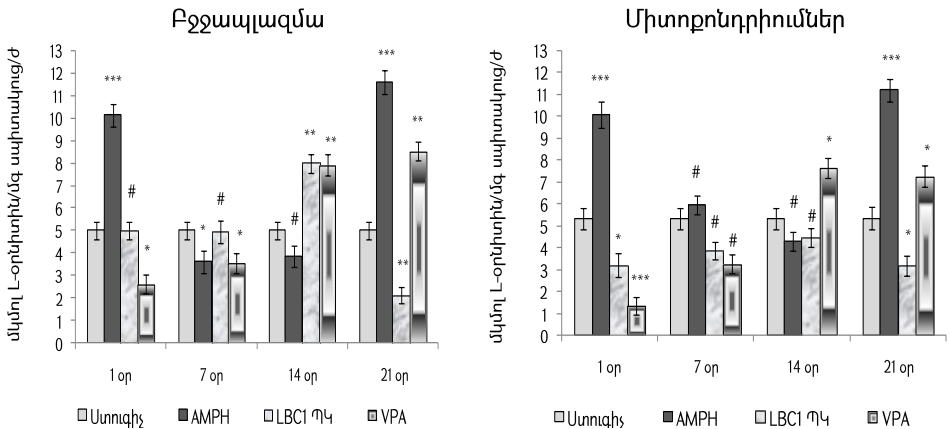
Նկ. 3. Արգինազի ենթաբջջային ակտիվությունը ուղեղի կեղևալիմբային համակարգի բաժիններում գերակտիվության ժամանակ ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵԽ մոդելում:

$p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

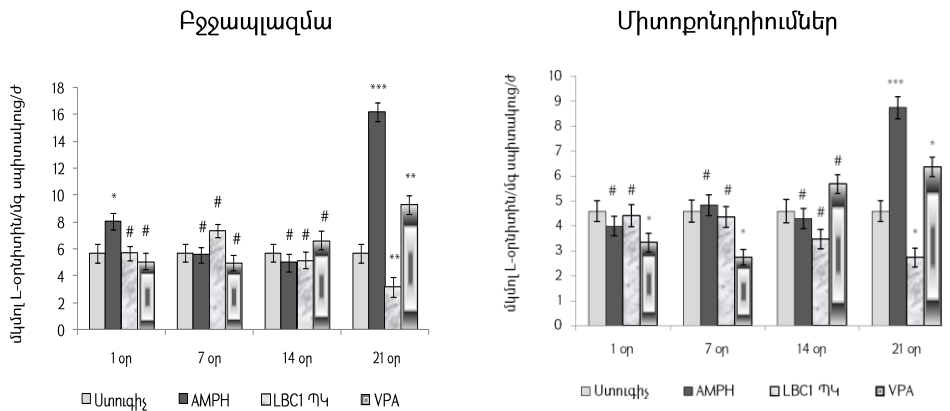
Նկարներ 4-8 երևում է, որ AMPH-ի ներմուծումից 7 օր հետո առավել ընկճված վարքի ժամանակ, Ա1-ի և Ա2-ի ակտիվությունները նվազում են ու կարգավորվում ուղեղի բաժիններում, սակայն հետամֆետամինային շրջանի 21-րդ օրը կրկին խթանվում:

Բուժումից հետո LBC1 ՊԿ կարգավորում է Ա1-ի և Ա2-ի ակտիվությունները, նվազեցնելով վերջինս ՆՃԿ-ում և ՀԹ-ում, ինչպես նաև կանխարգելում է կրկին խթանումը: VPA կարգավորում է արգինազի իզոմերների ակտիվությունները, բայց ՆՃԿ-ում նվազեցնում է Ա1-ի և Ա2-ի ակտիվությունը՝ 2 և 4 անգամ, ստուգիչից ցածր, համապատասխանաբար ու չի կանխարգելում դրանց կրկին խթանումը՝ ՀԿ-ում և ՀԹ-ում: Նշենք, որ LBC1 ՊԿ և VPA-ի կողմից արգինազի իզոմերների ակտիվության

կարգավորումը ուղեղում ասոցացվում է դրանց բարենպաստ ազդեցության հետ վարքային բնութագրի վրա:

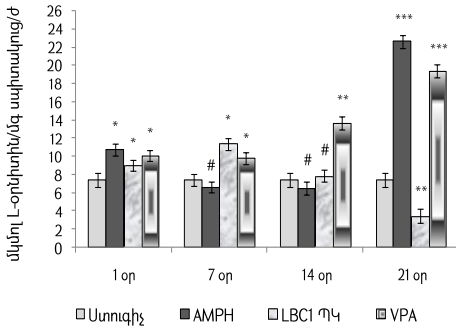


Նկ. 4. LBC1 պրոբիոտիկների կոնպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը արգինազի ենթաբջջային ակտիվության վրա նախաճակատային կեղևում ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵԽ մոդելում:
 # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստրուգիչի համեմատ

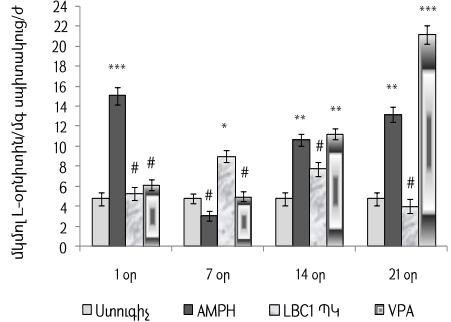


Նկ. 5. LBC1 պրոբիոտիկների կոնպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը արգինազի ենթաբջջային ակտիվության վրա զրկավոր մարմնում ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵԽ մոդելում:
 # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստրուգիչի համեմատ

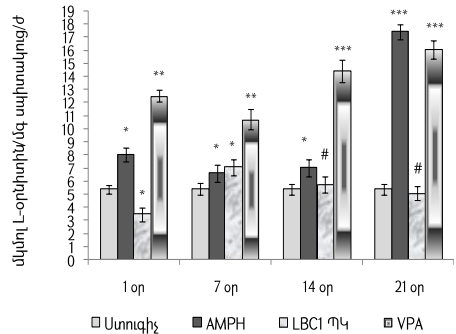
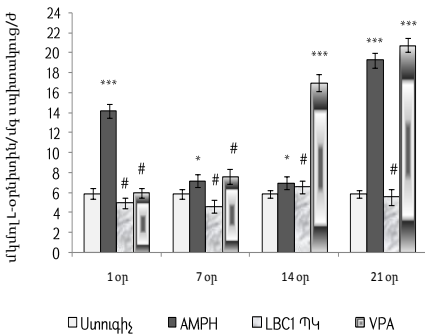
Բջջապլազմա



Միտոքոնդրիումներ



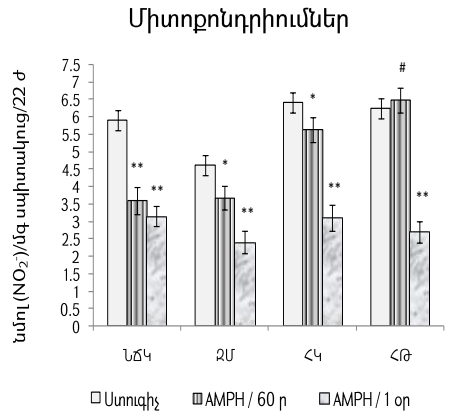
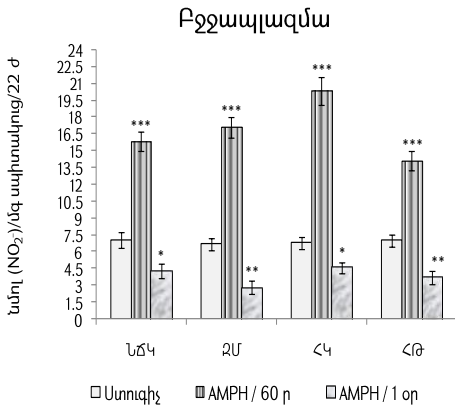
Նկ. 6. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալարոատի (VPA) ազդեցությունը արգինազի ենթաբջջային ակտիվության վրա հիպոկամպում ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵԽ մոդելում:
 # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ



Նկ. 7. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալարոատի (VPA) ազդեցությունը արգինազի ենթաբջջային ակտիվության վրա հիպոթալամում ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵԽ մոդելում:
 # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

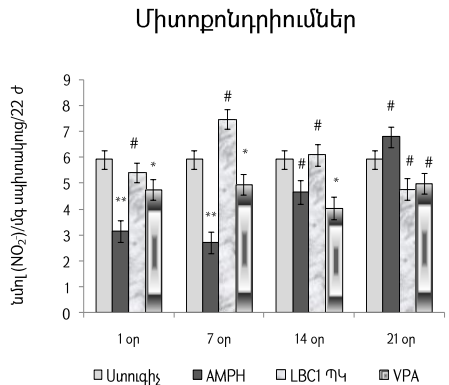
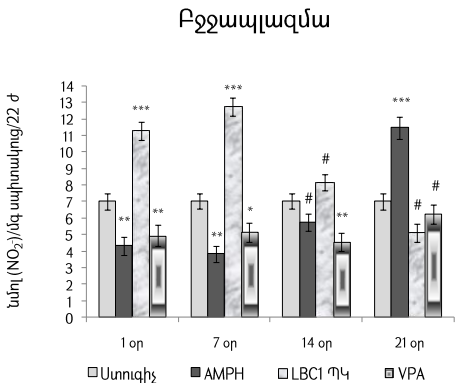
LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի ու վալարոատի ազդեցությունը ուղեղի ազոտի օքսիդի սինթազի ենթաբջջային ակտիվության վրա ամֆետամինով մակաձված առնետի երկբևեռ խանգարման մոդելում:

Գերակտիվության ժամանակ ուղեղում բացահայտվել է NOS-ի ընդհանուր ակտիվության ռեգիոն-կախյալ խթանում բջջապլազմայում, որը չի դիտվում միտոքոնդրիումներում (Նկ. 8):



Նկ. 8. Ազոտի օքսիդի սինթազի ենթաբջջային ակտիվությունը ուղեղի կեղևալիմբային համակարգի բաժիններում գերակտիվության ժամանակ ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵՄ մոդելում:
 # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

Նկարներ 9-12 երևում է, որ AMPH-ի ներմուծման ավարտից 7 օր հետո, երբ առավել ճնշվում է առնետների վարքային ակտիվությունը NOS-ի ակտիվությունը բջջաբաղադրամասերում ռեգիոն-կախյալ նվազում է ստուգիչից ցածր: Այն կրկին խթանվում՝ ՆՃԿ-ի ու ՀԿ-ի բջջապլազմայում և ՉՄ-ի բջջաբաղադրամասերում հետամֆետամինային շրջանի 21-րդ օրը:

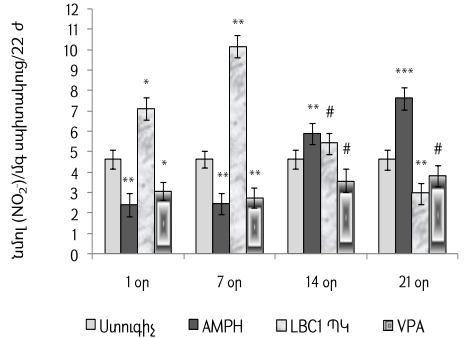
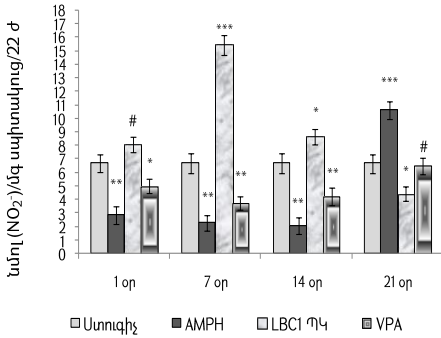


Նկ. 9. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը ազոտի օքսիդի սինթազի ենթաբջջային ակտիվության վրա նախաճակատային կեղևում ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵՄ մոդելում:
 # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

Նկար 9-ում երևում է, որ ընկճվածության ժամանակ LBC1 ՊԿ խթանում է NOS-ի ակտիվությունը ՆՃԿ-ի բջջապլազմայում և կարգավորում՝ միտոքոնդրիումներում, ինչպես նաև կանխարգելում է կրկին խթանումը՝ կարգավորելով NOS-ի ենթաբջջային ակտիվությունը, մինչդեռ VPA-ը միայն թեթևակի է խթանում NOS-ի ակտիվությունը գլխուղեղի բաժիններում ընկճվածության ժամանակ, սակայն կանխարգելում է ֆերմենտի կրկին խթանումը:

Բջջապլազմա

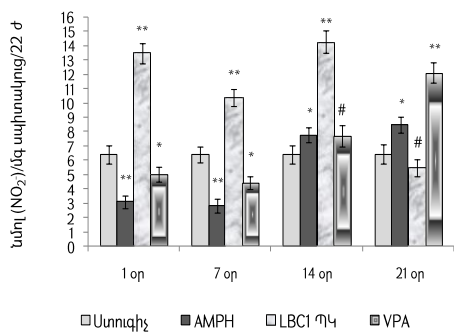
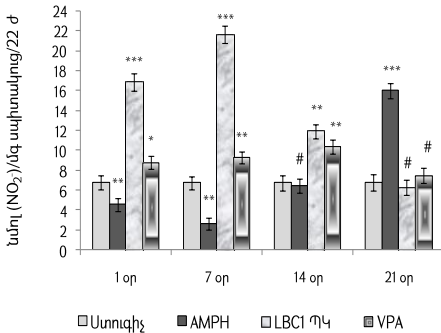
Միտոքոնդրիումներ



Նկ. 10. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը ազոտի օքսիդի սինթազի ենթաբջջային ակտիվության վրա զուլավոր մարմնում ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵԽ մոդելում:
$p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

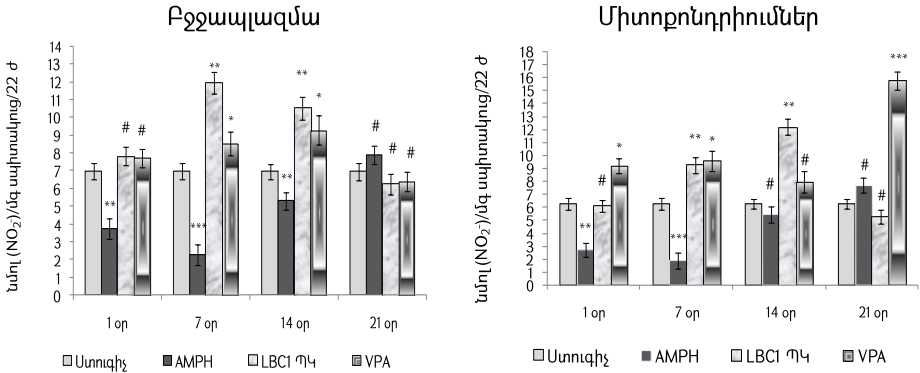
Բջջապլազմա

Միտոքոնդրիումներ



Նկ. 11. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալպրոատի (VPA) ազդեցությունը ազոտի օքսիդի սինթազի ենթաբջջային ակտիվության վրա հիպոկամպում ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵԽ մոդելում:
$p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

LBC1 ՊԿ և VPA-ը ցուցաբերում են նման ազդեցություն NOS-ի ակտիվության վրա ՋՄ-ի բջջաբաղադրամասերում (նկ. 10): Բուժման ավարտին ՀԿ-ում LBC1 ՊԿ կանխում է NOS-ի ենթաբջջային ակտիվության նվազումը և կրկնակի խթանում այն բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում բուժումից 7 և 14 օր հետո, իսկ 21 օր հետո կարգավորում այն՝ կանխարգելելով կրկին խթանումը: VPA-ը թույլ է խթանում NOS-ը, իսկ 21-րդ օրը էլ ավելի է խթանում այն միտոքոնդրիումներում (նկ.11):



Նկ. 12. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսի (ՊԿ) և/կամ վալարոատի (VPA) ազդեցությունը ազոտի օքսիդի սինթազի ենթաբջջային ակտիվության վրա հիպոթալամուսում ամֆետամինով (AMPH) մակաձված առնետի ԵԽ մոդելում:
 # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ստուգիչի համեմատ

Նմանատիպ ազդեցություն LBC1 ՊԿ ցուցաբերում է NOS-ի ենթաբջջային ակտիվությունը ՀԹ-ում, մինչդեռ VPA բուժումից 1, 7 և 14 օր հետո հիմնականում կարգավորում է այն, իսկ 21 օր հետո խթանում է 2.5 անգամ ստուգիչից բարձր ՀԹ-ի միտոքոնդրիումներում (նկ. 12):

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. LBC1 պրոբիոտիկների կոմպլեքսը (LBC1 ՊԿ) և վալարոատը կանխարգելում են առնետների ստերեոտիպային վարքը ու նվազեցնում են AMPH-ի ներմուծումից 60 րոպե հետո դիտվող գերակտիվությունը, որն ուղեկցվում է բջջապլազմայում NOS-ի և արգինազի իզոնս Ա1-ի և միտոքոնդրիումներում՝ արգինազի իզոնս Ա2-ի ակտիվությունների աճով ուղեղի կեղևալիմբային համակարգի բաժիններում՝ նախաճակատային կեղևում, զոլավոր մարմնում, հիպոկամպում և հիպոթալամուսում:
2. LBC1 ՊԿ և վալարոատը նվազեցնում և կարգավորում են արգինազի իզոնսների և NOS-ի ակտիվությունը, մինչդեռ վալարոատը 4 անգամ նվազեցնում է Ա2-ի

ակտիվությունը նախաճակատային կեղևում և չի կարգավորում Ա1-ի ակտիվությունը հիպոկլամպում և հիպոթալամուսում:

3. AMPH-ի ներմուծումից 7 օր հետո դիտվում է ընկճված վարք և NOS-ի ենթաբջջային ակտիվության նվազում: Վալպրոատը չի ազդում, իսկ LBC1 ՊԿ կարգավորում է վարքը և խթանում է NOS-ի ենթաբջջային ակտիվությունը:
4. AMPH-ի ներմուծումից հետո խթանվում են լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացները, որոնք կարգավորվում են LBC1 ՊԿ կողմից, մինչդեռ վալպրոատը կրկնակի անգամ նվազեցնում է այն:
5. AMPH-ի ներմուծումից 21 օր հետո խթանվում են արգինազի ու NOS-ի ենթաբջջային ակտիվությունները և լիպիդների գերօքսիդացումը: LBC1 ՊԿ կանխարգելում է դիտվող խթանումը, մինչդեռ վալպրոատը չի ազդում արգինազի իզոմերի ակտիվության վրա հիպոկլամպում և հիպոթալամուսում:
6. LBC1 ՊԿ և վալպրոատը արգելակում են օպորտունիստական մանրէների, այդ թվում՝ ընկճվածությանը նպաստող *Candida albicans*-ի աճը: Այս շարքում վալպրոատը թույլ է ճնշում *Staphylococcus aureus*-ի աճը:
7. Հեռանկարային է արգինազի իզոմերի և NOS-ի հետազոտումը կլինիկայում որպես թերապևտիկ թիրախ, ինչպես նաև բուժման արդյունավետությունը բարձրացնելու և դեղորայքային կողմնակի էֆեկտները կանխելու նպատակով LBC1 ՊԿ ներդրումը լրացուցիչ թերապիայում:

ՀՐԱՏԱՐԱԿՈՒՄՆԵՐԻ ՑԱՆԿ

Հոդվածներ

1. Հովհաննիսյան Մ.Ռ. Մտամոլության L-արգինին կախյալ մեխանիզմները դեքսամֆետամինով մակաձված երկբևեռ խանգարման ժամանակ: // Հայաստանի Բժշկագիտություն: 2019; 59(3), 72-82.
2. Alchujyan N.Kh., Hovhannisyan M.R., Movsesyan N.H., Madoyan R.A., Sargsyan H.H., Aghababova A.A., Minasyan G.H., Hayrapetyan H.L., Kevorkian R.G., Chailyan S.G., Kevorkian G.A. Free and zeolite-immobilized probiotic mixture versus sodium valproate in prevention of oxidative stress and modulation of the L-arginine intracellular metabolic pathways in the rat brain and blood following dexamphetamine-induced bipolar disorder. // Eur Chem Bull. 2018; 7(1):42-51.
3. Հովհաննիսյան Մ.Ռ. Նատրիումի վալպրոատի ռեգիոնալ ազդեցությունը արգինինի ենթաբջջային նյութափոխանակության և լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացների վրա գլխուղեղում փորձարարական երկբևեռ խանգարման ժամանակ: // Հայաստանի Բժշկագիտություն: 2017; 57(4):3-12.
4. Алчуджян Н.Х., Агабабова А.А., Мовсесян Н.О., Оганнисян М.Р., Акопян А.М., Мовсесян О.А., Геворкян Г.А. Модулирующее влияние коктейля селективных штаммов пробиотиков на внутриклеточные метаболические сдвиги в динамике дексамфетамин-индуцированного биполярного расстройства. // Биол Ж Армении. 2017; 69(1):23–29.

5. Мовсесян О.А., Алчуджян Н.Х., Мовсесян Н.О., Акопян А.М., Агабабова А.А., Оганнисян М.Р., Минасян Г.Г., Геворкян Г.А. Особенности метаболизма в кортиколимбической системе и крови при дексамфетамин-индуцированном биполярном расстройстве. Окислительный стресс и креатинкиназная система. Сообщение 2. // Мед Наука Армении. 2017; 57(3):37-50.
6. Мовсесян О.А., Алчуджян Н.Х., Мовсесян Н.О., Оганнисян М.Р., Акопян А.М., Минасян Г.Г., Хачатрян Г.Ф., Геворкян Г.А. Особенности метаболизма в кортиколимбической системе и крови при дексамфетамин-индуцированном биполярном расстройстве. Альтернативные пути превращения аргинина. Сообщение 1. // Мед Наука Армении. 2017; 57(2):12-24.
7. Movsesyan N.A., Alchujyan N.Kh., Aghababova A.A., Movsesyan N.H., Hovhannisyan M.R., Hakobyan A.M., Hovsepyan I.V., Khachatryan H.F., Kevorkian G.A. Effects of *d*-amphetamine on the regional activity of arginase isoforms in the rat corticolimbic brain. // Proceedings of the YSU. Chemical and Biological Sciences. 2016; 3:40-47.
8. Barsegyan K.A., Sargsyan H.H., Madoyan R.A., Alchujyan N.Kh., Guevorkian A.G., Movsesyan N.H., Hayrapetyan H.L., Hovhannisyan M.R., Khachatryan H.F., Barseghyan V.A., Kevorkian G.A. Combined effect of lactic acid bacteria and modified natural mineral composite substances on the chronic stress-induced depression and cognitive deficit. // J Appl Biochem. 2013; 106:157-169.

Նյութեր միջազգային գիտաժողովներում

1. Hovhannisyan M.R. Selected probiotic mixture in the treatment of dexamphetamine-induced bipolar disorder. VII Всероссийская неделя науки с международным участием "Week of Russian Science - 2018", посвященная "Всемирному дню здоровья" 2018. <https://medconfer.com/en/node/18302>.
2. Hovhannisyan M.R., Mikayelyan H.M., Movsesyan N.A., Alchujyan N.Kh., Kevorkian G.A. Amphetamine effects on the L-arginine metabolic pathways in the intracellular structures of the rat brain corticolimbic regions. International Young Scientists Conference dedicated to the 50th Anniversary of the Institute of Molecular Biology NAS RA "New trends in life science", 26-28 September, 2016, Yerevan, Armenia. p.52.
3. Hovhannisyan M.R., Alchujyan N.Kh., Movsesyan N.H., Kevorkian G.A. Probiotics immobilized on modified natural mineral composite substances restore cognitive function in chronic stress. International Youth Conference "Innovation Approaches In Science". 5-7 December, 2014, Tsaghkadzor, Armenia. p. 30-36.
4. Hovhannisyan M.R., Alchujyan N.Kh., Aghababova A.A., Movsesyan N.H., Kevorkian G.A. Pathogenic microbes cross the blood-brain barrier and affect brain nitrenergic system following chronic stress-induced depression. Proceedings of the International Young Scientists Conference "Perspectives for Development of Molecular and Cellular Biology"– 4, 21-22 October, 2013, Yerevan, Armenia. Bio J Arm. 2013, 65 (supp. 1). p. 76-77.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА ПРОБИОТИКОВ LBC1 НА МЕТАБОЛИЗМ L-АРГИНИНА В МОЗГЕ КРЫС В МОДЕЛИ АМФЕТАМИН-ИНДУЦИРОВАННОГО БИПОЛЯРНОГО РАССТРОЙСТВА

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: амфетамин, аргиназа, биполярное расстройство, вальпроат, кортиколимбическая система, микробиота, митохондрии, перекисное окисление липидов, пробиотики, синтаза оксида азота, цитоплазма

Ежедневные инъекции возрастающих доз дексамфетамина (АМРН) в животной модели биполярного расстройства вызывают гиперактивность и стереотипию, с последующим спадом поведенческой активности, которое максимально проявляется через 7 дней, с последующей тенденцией к нормализации поведения на 14-й и 21-й дни. Для лечения биполярного расстройства был подобран комплекс селективных штаммов пробиотиков (ПК) с нейроактивными и фунгицидными свойствами, обозначенный LBC1 (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus salivarius*, *Bifidobacterium bifidum*, и *Escherichia coli* M17). ПК LBC1 и/или нормотимик вальпроат (VPA) вводили параллельно с АМРН с середины курса инъекций АМРН до его окончания. ПК LBC1 и VPA предупреждали стереотипию и снижали гиперактивность крыс, причем ПК LBC1 предотвращал также подавление активности животных, а VPA – нет. В то же время ПК LBC1 и VPA подавляли рост оппортунистических микроорганизмов, включая *Candida albicans*, участвующую в механизмах депрессии, однако VPA слабо подавлял рост *Staphylococcus aureus*.

При гиперактивности крыс в отделах кортиколимбической системы мозга (префронтальном кортексе, полосатом теле, гипокампе и гипоталамусе) выявлено одновременное активирование изоформ аргиназы, цитоплазматической А1, которая участвует в синтезе глутамата и пролина, и митохондриальной А2, участвующей в синтез полиаминов, а также синтазы оксида азота (NOS) в цитоплазме, что в совокупности может способствовать активации глутаматергического/NO пути и моноаминергической трансмиссии. В то же время в отделах мозга наблюдалось активирование перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Оксидативный стресс вкупе с повышенной активностью аргиназы и NOS могут время-зависимо снижать уровень тетрагидробиоптерина и повышать содержание

пероксинитрита, ингибирующие моноаминовую нейротрансмиссию и ведущие к подавлению поведенческой активности крыс, которое наблюдается в первые 7 дней после отмены AMPH, которое сопровождается снижением активности NOS и нормализацией аргиназной активности в цитоплазме и митохондриях тканей исследуемых регионов мозга. ПК LBC1 предотвращает падение поведенческой активности крыс и одновременно нормализует активность изоформ аргиназы (и даже снижает их ниже нормы в префронтальном кортексе и гипоталамусе) и стимулирует субклеточную активность NOS. VPA по окончании лечения нормализует активность изоформ аргиназы, в исследуемых тканях, за исключением префронтального кортекса, в котором снижает активности A1 и A2 в 2 и 4 раза, соответственно, что может вызывать гипераммонемическую энцефалопатию, которая наблюдается у пациентов, получавших VPA-терапию. VPA подавляет также процессы ПОЛ ниже физиологического уровня в течение всего постапфетаминового периода, что может нарушать процессы редокс-сигнализации в мозге.

Через 21 день после отмены AMPH наблюдается повторное повышение субклеточной активности NOS и аргиназы, а также активирование процессов ПОЛ, которые предотвращаются при введении ПК LBC1, что возможно будет препятствовать процессам гиперактивирования и возбуждения. VPA не предотвращает активирование A1 и A2 в гиппокампе и гипоталамусе, и еще больше стимулирует активность NOS в их митохондриях, что будет влиять на функционирование комплексов дыхательной цепи электронов.

Таким образом, в модели AMPH-индуцированного биполярного расстройства в отделах кортиколимбической системы мозга выявлены регион-зависимые сдвиги субклеточного метаболизма L-аргинина и процессов ПОЛ, ассоциированные с поведенческими альтерациями. Выявлены особенности регуляторного влияния на указанные метаболические пути нового комплекса пробиотиков LBC1 и/или вальпроата, которые одновременно предотвращали/смягчали процессы возбуждения и подавленную поведенческую активность, и ассоциированные сдвиги кишечной микробиоты, что открывает перспективы дальнейшего изучения аргиназы и NOS в клинике в качестве терапевтических мишеней и ПК LBC1 в целях использования в адьювантной терапии биполярного расстройства для повышения эффективности лечения и предотвращения побочных эффектов лекарств.

THE EFFECT OF LBC1 PROBIOTIC COMPOSITION ON L-ARGININE METABOLISM IN
THE BRAIN IN THE RAT MODEL OF AMPHETAMINE-INDUCED
BIPOLAR DISORDER

SUMMARY

Key words: amphetamine, arginase, bipolar disorder, corticolimbic system, cytoplasm, lipid peroxidation, mitochondria, nitric oxide synthase, probiotics, valproate

Daily injections of increasing doses of dexamphetamine (AMPH) in the animal model of bipolar disorder cause hyperactivity and stereotypy, followed by depressed behavioral activity, which is maximal in the first week after amphetamine and tends to normalize by day 21. For the treatment of bipolar disorder, we use a composition of probiotics (PC) with neuroactive and fungicidal properties, designated as LBC1 (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus salivarius*, *Bifidobacterium bifidum*, and *Escherichia coli M17*). PC LBC1 and/or a normothymic sodium valproate (VPA) were administered concurrently with AMPH from middle of AMPH injection course until completion. Both PC LBC1 and VPA can prevent stereotypy and reduce hyperactivity in rats, and PC LBC1 protects also against AMPH-induced depressive behavior, while VPA does not. Both PC LBC1 and VPA suppress AMPH-induced growth of opportunistic microorganisms, including *Candida albicans*, which is involved in depression mechanisms, but VPA slightly inhibits *Staphylococcus aureus* growth.

We found that the hyperactivity of rats is accompanied by the simultaneous activation of arginase isoforms (cytoplasmic A1, which is involved in the synthesis of glutamate and proline, and mitochondrial A2, which is involved in the synthesis of polyamines) in the regions of corticolimbic system of the brain (prefrontal cortex, striatum, hippocampus and hypothalamus). At the same time, nitric oxide synthase (NOS) is activated in the cytoplasm of the brain regions, and with arginase can contribute to the activation of the glutamatergic pathway / NO and monoaminergic transmission. Lipid peroxidation (LPO) processes are also activated in the brain areas studied.

Oxidative stress, coupled with increased activity of arginase and NOS, can time-dependently reduce the level of tetrahydrobiopterin and increase the content of peroxynitrite, leading to the inhibition of monoamine neurotransmission and the suppression of behavioral activity of rats, which is observed in the first 7 days after AMPH withdrawal.

Moreover, the suppressed behavioral activity of rats is accompanied by a decrease in NOS activity and normalization of arginase activity in the cytoplasm and mitochondria of tissues of the studied brain regions.

PC LBC1 can normalize LPO processes in the brain, while VPA suppresses LPO below the physiological level throughout the period after AMPH withdrawal, and can disrupt redox signaling in the brain. PC LBC1 at the end of treatment and further normalizes the activity of A1 and A2 in the brain (even reducing their activity in the prefrontal cortex and hypothalamus), and at the same time stimulates the subcellular activity of NOS. At the end of treatment, VPA normalizes the activity of arginase isoforms in the studied regions, with the exception of the prefrontal cortex, in which the activity of A1 and A2 is reduced by 2 and 4 times, respectively, and can cause hyperammonemic encephalopathy, which is observed in patients who received VPA therapy.

21 days after AMPH withdrawal, subcellular activity of NOS and arginase and lipid peroxidation processes are activated again. PC LBC1 prevents this reactivation and thus the possible development of hyperactivation and excitation processes. VPA does not prevent the activation of arginase isoforms in the hippocampus and hypothalamus and additionally stimulates the activity of NOS in their mitochondria, which can affect the functioning of the respiratory chain complexes.

Thus, in the model of AMPH-induced bipolar disorder we revealed region-specific changes in the subcellular metabolism of L-arginine and LPO processes in the regions of the brain corticolymbic system, which are associated with behavioral alterations. The regulatory effects of PC LBC1 and / or valproate on the above metabolic pathways, as well as the fact that they can prevent / attenuate hyperactivity and protect against suppression of behavioral activity of rats and changes in the intestinal microbiota, open up prospects for the further study of arginase and NOS in the clinic as therapeutic targets, as well as the PC LBC1 for use in adjuvant therapy of bipolar disorder to increase the effectiveness of treatment and prevent side effects of drugs.

