

ԵՐԵՎԱՆԻ Մ. ՀԵՐԱՑՈՒ ԱՆՎԱՆ ՊԵՏԱԿԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՄԵԼՔՈՆՅԱՆ ԱՐԹՈՒՐ ՄՈՒՇԵՂԻ

**ԱՂԻՔԱՅԻՆ ՄԻԿՐՈՖԼՈՐԱՅԻ ԵՎ ԼԵՅԿՈՑԻՏՆԵՐՈՒՄ Լ-ԱՐԳԻՆԻՆԻ
ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՏԵՂԱՇԱՐԺԵՐԸ ՏԻՊ 1 ՇԱՔԱՐԱՅԻՆ
ԴԻԱԲԵՏՈՎ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ՇՐՋԱՆՈՒՄ**

ԺԴ.00.03 - «Ներքին Հիվանդություններ» մասնագիտությամբ
բժշկական գիտությունների թեկնածուի գիտական
աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

Երևան – 2021թ.

**ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. М. ГЕРАЦИ**

МЕЛКОНЯН АРТУР МУШЕГОВИЧ

**СДВИГИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА И МЕТАБОЛИЗМА L-АРГИНИНА В
ЛЕЙКОЦИТАХ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПЕРВОГО ТИПА**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности 14.00.03 – “Внутренние болезни”

ЕРЕВАН – 2021

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական բժշկական համալսարանի գիտակոորդինացիոն խորհրդի՝ 08.02.2017թ. նիստում

Գիտական ղեկավար՝ Բ.Գ.Ղ., պրոֆ. Ելենա Միխայիլի Աղաջանովա

Պաշտոնական

ընդդիմախոսներ՝

Բ.Գ.Ղ., պրոֆ. Սերգեյ Ալեքսանդրի Ներսիսյան
Բ.Գ.Թ., դոց. Արտեմ Սերգեյի Գրիգորյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

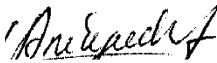
Լ. Ա. Հովհաննիսյանի անվան
Սրտաբանության ԳՀԻ ՓԲԸ

Պաշտպանությունը կայանալու է 2021թ. սեպտեմբերի 10-ին, ժամը 15⁰⁰-ին Երևանի Մ. Հերացու անվան Պետական Բժշկական Համալսարանին կից գործող 028 «Թերապիայի» մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0025, ք. Երևան, Կորյունի 2):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է 2021թ. հունիսի 21-ին:

**028 մասնագիտական խորհրդի
գիտական քարտուղար՝**



Բ.Գ.Ղ. Լուսինե Գերասիմի Թունյան

Тема диссертации утверждена на заседании Научно-координационного Совета Ереванского Государственного Медицинского Университета, 08.02.2017г.

Научный руководитель:

д.м.н., проф. Елена Михайловна Агаджанова

Официальные оппоненты:

д.м.н., проф. Сергей Александрович Нерсисян
к.м.н., доц. Артем Сергеевич Григорян

Ведущая организация:

НИИ кардиологии им. Л.А. Оганесяна

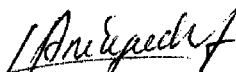
Защита состоится 10-ого сентября 2021г. в 15.⁰⁰ часов на заседании Специализированного совета 028 по “Внутренним болезням” при ЕГМУ им. М. Гераци (РА, 0025, г. Ереван, Корюна 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного медицинского университета им. М. Гераци.

Автореферат разослан 21-ого июня 2021г.

Ученый секретарь

специализированного совета 028



д.м.н. Лусине Герасимовна Тунян

ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Թեմայի արդիականությունը

Տիպ 1 շաքարային դիաբետն (ՏԸԴ) աուտոիմուն հիվանդություն է գենետիկ նախատրամադրվածությամբ անձանց մոտ, որը բնորոշվում է β-բջջիջների աուտոիմուն դեստրուկցիայով և, որպես հետևանք, բացարձակ ինսուլինային անբավարարությամբ: Համաձայն Դիաբետի միջազգային ֆեդերացիայի տվյալների՝ 2019թ. դրությամբ շուրջ 1.1 միլիոն երեխա տառապում է ՏԸԴ-ով: Չնայած փոխարինող հորմոնալ թերապիային, դիաբետի ուշ՝ միկրո- և մակրովասկուլյար բարդություններից խուսափել չի հաջողվում, ինչն էլ հանդիսանում է հիվանդների հաշմանդամության և մահացության հիմնական պատճառը:

Վերջին տարիներին աղիքային միկրոֆլորայի նկատմամբ գիտական հետաքրքրության աճը պայմանավորված է կենդանիների և մարդկանց վրա կատարված բազմաթիվ հետազոտություններով, որոնք ցուցադրել են միկրոբիոտայի հնարավոր դերակատարումը տիրոջ մետաբոլիկ և իմուն միջնորդավորված հիվանդությունների, այդ թվում՝ ՏԸԴ-ի պաթոգենեզում: Աղիքային միկրոֆլորայի տեղաշարժերն ազդում են համակարգային իմուն պատասխանի վրա, իսկ լելկոցիտներն արյան հունից ներթափանցելով հյուսվածքներ, այդ թվում՝ ենթաստամոքսային գեղձ, կարող են ունենալ անմիջական մասնկացություն β-բջջային վնասմանը:

Իմուն պատասխանում ներգրավված են L-արգինինի նյութափոխանակությանը մասնակցող ֆերմենտները՝ արգինազը (U) և NO-սինթազը (NOS), որոնք, ըստ վերջին տվյալների, ներգրավված են ՏԸԴ-ի զարգացման համար պատասխանատու ախտաբանական մեխանիզմներում: Արգինազը բջջիջների բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում ներկայացված է երկու՝ տարբեր ֆունկցիոնալ դերակատարում ունեցող իզոմերով, ընդ որում. մակրոֆագերում նրանք ունեն հակադիր՝ բջջապլազմայում Ա1-ը՝ հակաբորբոքային, իսկ միտոքոնդրիումներում՝ Ա2-ը՝ պրոբորբոքային ազդեցություն՝ մասնակցելով վերջիններիս ֆենոտիպերի ձևավորմանը: Արգինազն օրգանիզմում մրցակցում է NO-սինթազի հետ՝ ընդհանուր սուբստրատի՝ L-արգինինի համար, այդ կերպ նվազեցնելով բջջիջներում NO-ի առաջացումը: NO-ի բարձր քանակներն ունեն պրոբորբոքային ու ցիտոտոքսիկ ազդեցություն, խթանում են թիրախ բջջիջների ապոպտոզն ու նեկրոզը, մինչդեռ նրա ցածր կոնցենտրացիաներն ունեն հակաբորբոքային ազդեցություն: Այս ֆերմենտների ակտիվության վրա ազդեցություն ունեն աղիքային միկրոֆլորայի՝ գրամ բացասական բակտերիաների բջջապատի բաղադրիչ լիպոպոլիսախարիդները, ինչպես նաև գրամ դրական բակտերիաների բջջապատի բաղադրիչ տեյխոյաթթուն, պեպտիդոգլիկանները:

Ելնելով վերոգրյալից՝ աղիքային միկրոֆլորայի տեղաշարժերն ազդում են իմուն պատասխանի և դրանում ներգրավված L-արգինինի նյութափոխանակության, հետևաբար և՛ S1ՇԴ-ի ախտաբանական մեխանիզմների վրա, ուստի նրանց ուսումնասիրությունը կընդլայնի պատկերացումները վերջինի մասին՝ նոր հեռանկարներ բացելով հիվանդության կանխարգելման և բուժման ասպարեզում:

Աշխատանքի նպատակը

Աշխատանքի նպատակն է աղիքային միկրոֆլորայի և իմուն պատասխանում ներգրավված L-արգինինի նյութափոխանակության տեղաշարժերի ուսումնասիրությունը՝ տիպ 1 շաքարային դիաբետի՝ թերապևտիկ նոր թիրախների, ընթացքի և բուժման նոր չափանիշների որոնմամբ: Առաջադրված նպատակին հասնելու համար դրվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Քանակապես և որակապես գնահատել աղիքային միկրոֆլորայի օբլիգատ (*E. Coli*, *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*) և պայմանական ախտածին ներկայացուցիչները (*S. aureus*, *Candida* ցեղի սնկեր, *Clostridium spp.*) առողջ և տիպ 1 շաքարային դիաբետով հիվանդ երեխաների ու երիտասարդների շրջանում,

2. Տիպ 1 շաքարային դիաբետով հիվանդների շրջանում որակապես և քանակապես գնահատել աղիքային միկրոֆլորայի տեղաշարժերն ըստ.

- հիվանդության տևականության
- դիաբետի կոմպենսացիայի աստիճանի
- տարիքի
- սեռի

3. Պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտների բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում ուսումնասիրել արգինազի ակտիվությունը՝ կախված շաքարային դիաբետով հիվանդների տարիքից և սեռից, ինչպես նաև՝ ինսուլինաթերապիայի տևականությունից՝ համեմատելով նույն տարիքի և սեռի առողջ կամավորների հետ,

4. Պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտների բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում ուսումնասիրել NO-սինթազային ռեակցիայի արգասիքների՝ NO-ի կայուն մետաբոլիտ նիտրիտների պարունակությունը՝ կախված շաքարային դիաբետով հիվանդների տարիքից և սեռից, ինչպես նաև՝ ինսուլինաթերապիայի տևականությունից՝ համեմատելով նույն տարիքի և սեռի առողջ կամավորների հետ:

Աշխատանքի գիտական նորույթը

S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում բացահայտվել է աղիքային միկրոֆլորայի օբլիգատ շտամերի քանակների անկում, որն ուղեկցվել է պայմանական ախտածին շտամերի քանակների աճով: Հայտնաբերվել է վիճակագրորեն հավաստի դրական կոռելյացիոն կապ պայմանական

ախտածինների քանակների և արյան մեջ գլյուկոզայի միջին ցուցանիշների միջև. *S. aureus*-ի, կանդիդա ցեղի սնկերի, *Clostridium* spp-ի քանակների աճն առավել մեծ է եղել դեկոմպենսացված հիվանդների շրջանում: Տևական ինսուլինաթերապիան ցուցաբերել է միայն մասնակի բարերար ազդեցություն աղիքային միկրոֆլորայի որակական և քանակական կազմի վրա:

S1C7-ով հիվանդների պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում բացահայտվել են նյութափոխանակային տարբեր ուղիների ինդիկատորներ՝ արգինազի բջջապլազմային և միտոքոնդրիումային իզոձևերի ակտիվության խթանում՝ կախված սեռից, տարիքից և ինսուլինաթերապիայի տևողությունից: Կարճատև և տևական ինսուլինաթերապիան դեռահաս և երիտասարդ աղջիկների խմբերում կարգավորում է արգինազի իզոձևերի ակտիվությունը, ինչը մասամբ արձանագրվել է նաև երեխա և նախադեռահաս աղջիկների մոտ: Հակառակ աղջիկների, պարզվել է, որ S1C7-ով հիվանդ տղաների շրջանում կարճատև և տևական ինսուլինաթերապիան չի ազդում լեյկոցիտներում արգինազի իզոձևերի ակտիվության աճի վրա՝ անկախ տարիքից:

Արգինազային ակտիվության աճի ֆոնին, լեյկոցիտների ենթաբջջային ֆրակցիաներում դիտվել է նիտրիտների կենսահասանելիության նվազում: Երեխա/նախադեռահաս աղջիկների շրջանում նիտրիտների քանակները բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում կայուն կերպով նվազել են, իսկ դեռահաս/երիտասարդների տարիքային խմբում չեն փոփոխվել բջջապլազմայում, իսկ միտոքոնդրիումներում դիտվել է նրանց քանակների առավել մեղմ անկում՝ անկախ դիաբետի տևականությունից և ինսուլինաթերապիայից: Երեխա/նախադեռահաս տղաների շրջանում, հիվանդության մանիֆեստի ժամանակ արձանագրվել է լեյկոցիտներում նիտրիտների ենթաբջջային քանակների աճ, մինչդեռ դեռահաս/երիտասարդների խմբում փոփոխություններ չեն արձանագրվել: Հիվանդության տևականությանը զուգահեռ, տղաների երկու տարիքային խմբերում լեյկոցիտների բջջապլազմային և միտոքոնդրիալ ֆրակցիաներում դիտվել է նիտրիտների քանակների էական անկում:

Գիտակիրառական նշանակությունը

Աշխատանքում ցուցադրվել է պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում արգինինի նյութափոխանակության երկու առանձին ճյուղերի՝ արգինազի իզոձևերի ակտիվության և NO-ի էնդոգեն սինթեզի՝ սեռ- և տարիք-ասոցացված տեղաշարժերի ներգրավվածությունը տիպ 1 շաքարային դիաբետի ախտաբանական մեխանիզմներում: Ցուցադրվել են նաև աղիքային միկրոբիոտայի տեղաշարժերի առանձնահատկությունները՝ կախված ինսուլինաթերապիայի տևականությունից և ածխաջրային փոխանակության կոմպենսացիայի աստիճանից:

Ստացված տվյալները թույլ են տալիս աղիքային միկրոբիոտան, ինչպես նաև՝ L-արգինինի նյութափոխանակության ուղիները դիտարկել որպես հնարավոր թերապևտիկ թիրախներ՝ տիպ 1 շաքարային դիաբետի կանխարգելման և բուժման հարցում, ինչպես նաև՝ որպես հիվանդության ընթացքի և բուժման արդյունավետության չափանիշներ: Տիպ 1 շաքարային դիաբետով՝ առաջնային հայտնաբերված հիվանդների շրջանում ինսուլինաթերապիային զուգահեռ պրոբիոտիկների կիրառմամբ հետազոտությունները կարող են նոր հորիզոններ բացել աուտոագրեսիայի և հիվանդության պրոգրեսիվման դեմ պայքարում:

Ատենախոսության նախապաշտպանությունը

Նախապաշտպանությունը կայացել և հրապարակային պաշտպանության է թույլատրվել Երևանի պետական բժշկական համալսարանի Գիտակոորդինացիոն խորհրդի՝ 2020թ. դեկտեմբերի 29-ի նիստում: Աշխատանքի հիմնական դրույթները քննարկվել են ԵՊԲՀ՝ էնդոկրինոլոգիայի ամբիոնի, գիտակոորդինացիոն խորհրդի նիստերում:

Ատենախոսության կառուցվածքը

Աշխատանքը շարադրված է 107 էջի վրա, պարունակում է 8 աղյուսակ, 16 նկար: Գրականության ցանկը ներառում է հայերեն, ռուսերեն և անգլերեն լեզուներով 187 անվանում: Ատենախոսությունը բաղկացած է հապավումների ցանկից, ներածությունից, գրականության վերլուծությունից, հետազոտության նյութից և մեթոդներից, հետազոտության արդյունքներից, քննարկումից, եզրակացություններից, գրականության ցանկից և հավելվածից:

Հրապարակումներ

Ատենախոսության աշխատանքի շրջանակներում հրատարակվել են գիտական 5 հոդվածներ (3-ը հայրենական և 2-ը արտասահմանյան գիտաբժշկական պարբերականներում) և 4 թեզ:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹԸ

ԵՎ ՄԵԹՈՂՆԵՐԸ

Մասնակիցներ և ընթացակարգ. խաչաձև հատմամբ կլինիկական հետազոտության մեջ ընդգրկվել են 5-ից 25 տարեկան՝ 108 հիվանդներ և 108 առողջներ: Հետազոտվող խմբերի՝ առողջ և հիվանդ մասնակիցները համապատասխանում են միմյանց ըստ տարիքի, սեռի, ծննդաբերության կենսամեխանիզմի և կրծքով կերակրման տևողության: Հիվանդներից կազմված 108 հոգանոց ընտրանքը բաժանվել է ենթախմբերի.

- ըստ դիաբետի տևականության՝ առաջնային հայտնաբերվածներ (տևականությունը մինչև 1 տարի) և դիաբետի՝ տևական անամնեզով հիվանդներ (տևականությունը 1 տարուց ավել),

- ըստ ածխաջրային փոխանակության կոմպենսացիայի աստիճանի՝ կոմպենսացվածներ և դեկոմպենսացվածներ (որպես կոմպենսացիայի ցուցանիշ ընդունվել է՝ $HbA_{1C} < 7.5\%$):

- ըստ տարիքի՝ երեխաներ/նախադեռահասներ (5-12 տարեկան) և դեռահասներ/երիտասարդներ (12-25 տարեկան):

Հիվանդները բուժվել և հսկվել են «Մուրացան» համալսարանական հիվանդանոցի էնդոկրինոլոգիայի կլինիկայում՝ համաձայն ստանդարտ կլինիկական ուղեցույցերի: Հետազոտության սկզբում մասնակիցների մոտ բացառվել են սուր և խրոնիկ բորբոքային հիվանդությունները, իսկ հետազոտության սկզբին նախորդող երեք ամիսներին նրանք չեն ընդունել դեղորայք, որոնք կարող էին ազդեցություն ունենալ աղիքային միկրոֆլորայի վրա: Աղիքային միկրոֆլորայի որակական և քանակական քննությունն իրականացվել է «ՆՈՐՔ» ինֆեկցիոն կլինիկական հանրապետական հիվանդանոցի լաբորատորիայում՝ սննդային միջավայրերում ֆեկալ նմուշների ցանքսի միջոցով:

Գլիկոլիացված հեմոգլոբինի՝ HbA1C-ի որոշումն իրականացվել է Մուրացան համալսարանական հիվանդանոցի լաբորատորիայում: Հեմոլիզատի պատրաստումից հետո հեմոգլոբին A1C-ի կոնցենտրացիան որոշվել է սուլբիթիմետրիկ մեթոդով:

Արյան կենսաքիմիական ցուցանիշների ուսումնասիրությունն իրականացվել է ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի ախտաբանական կենսաքիմիայի և ռադիոիզոտոպային մեթոդների լաբորատորիայում: Հետազոտության մասնակիցներից երակային արյան նմուշները վերցվել են առավոտյան՝ 3.8% նատրիումի ցիտրատի հակամակարդիչի մեջ, ավելացվել են 6% դեքստրանին, ինկուբացվել: Լեյկոցիտների բջջապլազմային և միտոքոնդրիալ ֆրակցիաների անջատումը կատարվել է դիֆերենցիալ ցենտրիֆուգման եղանակով:

Արգինազի ակտիվության որոշումը: Նմուշներն ինկուբացվել են ռեակցիոն խառնուրդում՝ 20 մՄ HEPES բուֆեր, 2 մՄ դիթիոտրեիտոլ, pH 7.4, 0.05Մ $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 0.2Մ L-արգինին-HCl, ռեակցիան կանգնեցվել է 10%-ոց ԵթԹ-ով, նմուշները ցենտրիֆուգվել են, և ստացված սպիտակուցազուրկ վերնստվածքներում որոշվել է L-օրնիտինի պարունակությունը, որն առաջացել է արգինազային ռեակցիայի արդյունքում:

Նիտրիտների՝ NO-ի կայուն մետաբոլիտների պարունակության որոշումը կատարվել է սպիտակուցազերծ վերնստվածքներում, որոնք ստացվել են նմուշներին 0.5Մ NaOH և 10%-ոց $ZnSO_4$ ավելացմամբ և ցենտրիֆուգմամբ: Վերնստվածքներին ավելացվել է Գրիս-Իլոսվայի ռեակտիվը՝ 1:1 ծավալային հարաբերությամբ, և կլանումը չափվել է 546նմ ալիքի երկարությամբ՝ ընդդեմ ստուգիչի:

Վիճակագրական վերլուծություն: Ոչ թվային փոփոխականների միջև կապը գնահատվել է X^2 տեստի միջոցով: Հետազոտվող մի քանի ենթախմբերի համեմատությունն իրականացվել է պարամետրիկ մեկգործոնային դիսպերսիոն անալիզի (one-way Anova) և Հոլմ-Սիդակի հետդիսպերսիոն տեստի միջոցով: Երկու անկախ խմբերի համեմատությունն իրականացվել է երկկողմանի t -տեստի օգնությամբ: Կոռելյացիան հաշվարկվել է Պիսոնի գծային կոռելյացիայի գործակցի հիման վրա: Հավաստիության չափանիշը ընդունվել է $p < 0.05$: Տվյալների վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է Sigma Stat 3.5 for Windows և Microsoft Office Excel 2007 վիճակագրական ծրագրակազմերի միջոցով:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

Մեր կողմից ուսումնասիրվել են ՏՇԴ-ով հիվանդների շրջանում աղիքային միկրոֆլորայի բաղադրության քանակական և որակական տեղաշարժերը՝ զուգակցված արյան պլազմայում և լեյկոցիտների ենթաբջջային ֆրակցիաներում L-արգինինի նյութափոխանակության տեղաշարժերի հետ:

Աղյուսակ 1. Աղիքային միկրոֆլորայի քանակական տեղաշարժերը ՏՇԴ-ով հիվանդների շրջանում.

Միկրոֆլորա	Մանրէների քանակը մեկ գրամ կղանքում	
	Հսկիչ խումբ	Տիպ 1 շաքարային դիաբետ
<i>Bifidobacterium spp.</i>	7.2 ± 0.12	6.4 ± 0.19***
<i>Lactobacillus spp.</i>	7.0 ± 0.13	5.95 ± 0.23***
<i>E. coli</i>	8.4 ± 0.06	7.55 ± 0.19***
<i>S. aureus</i>	0 ± 0	0.34 ± 0.1**
<i>Candida spp.</i>	0.17 ± 0.07	0.77 ± 0.17**
<i>Clostridium spp.</i>	1.1 ± 0.18	2.0 ± 0.21**
<i>Enterococcus</i>	6.21 ± 0.09	6.32 ± 0.09#
<i>Anaerobic bact.</i>	0.93 ± 0.16	1.83 ± 0.17#
<i>Proteus</i>	0.11 ± 0.05	0.06 ± 0.02#

Արդյունքները ներկայացված են տասի հիմքով լոգարիթմներով: Այստեղ և ստորև արդյունքների տարբերության հավաստիությունը (p) ներկայացված է ստուգիչի համեմատ $M \pm SEM$, ($n=108$): Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$:

S1C7-ով հիվանդների շրջանում հայտնաբերվել են աղիքային օբլիգատ ֆլորայի ներկայացուցիչների՝ *E. coli*-ի (8.4 ընդդեմ 7.5, $p < 0.001$), *Lactobacillus spp.*-ի (7.0 ընդդեմ 5.95, $p = 0.0002$), *Bifidobacterium spp.*-ի (7.2 ընդդեմ 6.4, $p = 0.002$), քանակների վիճակագրորեն հավաստի անկում (աղյուսակ 1): Հիվանդների շրջանում դիտվել է *Clostridium spp.*-ի քանակների նշանակալի անհամեմատաձ առողջ երեխաների և երիտասարդների հետ (2.0 ընդդեմ 1.1, $p = 0.002$): Հատկանշական է, որ *Clostridium*-ի որոշ (բուֆիրատ արտադրող) շտամեր ունեն պաշտպանական նշանակություն օրգանիզմի համար, մինչդեռ մյուսները նպաստում են աղիներում այլ՝ կարճ-շրթա հագեցած ճարպաթթուների սինթեզին (ացետատ, պրոպիոնատ, սուկցինատ)՝ այդ կերպ նպաստելով «սերտ կոնտակտների» վնասմանը և աղիքի լորձաթաղանթի փխրունությանը: Ենթադրում ենք, որ հիվանդների շրջանում *Clostridium*-ի քանակների աճը տեղի ունի նրա՝ «վնասակար» տեսակների հաշվին:

Աղյուսակ 2. Աղիքային միկրոֆլորայի քանակական տեղաշարժերը S1C7-ով հիվանդների շրջանում՝ ըստ դիաբետի կոմպենսացիայի աստիճանի.

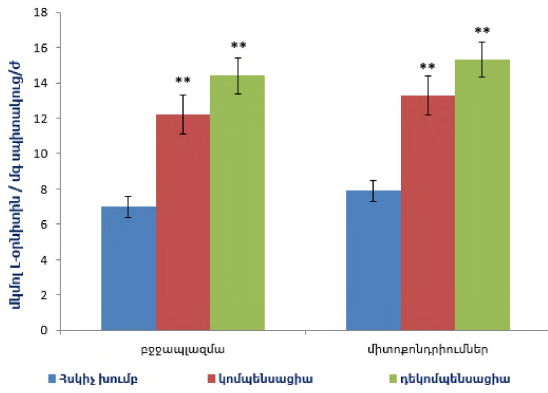
Միկրոֆլորա	Մանրէների քանակը մեկ գրամ կղանքում	
	Դիաբետը՝ կոմպենսացված	Դիաբետը՝ դեկոմպենսացված
<i>Bifidobacterium</i>	6.21 ± 0.29	6.52 ± 0.23 [#]
<i>Lactobacillus spp.</i>	5.74 ± 0.35	6.1 ± 0.29 [#]
<i>E. coli</i>	7.34 ± 0.29	7.71 ± 0.26 [#]
<i>S. aureus</i>	0.11 ± 0.02	0.52 ± 0.18 [*]
<i>Candida spp.</i>	0.17 ± 0.03	1.2 ± 0.28 ^{***}
<i>Clostridium spp.</i>	1.68 ± 0.31	2.2 ± 0.28 [#]
<i>Enterococcus</i>	6.3 ± 0.15	6.34 ± 0.12 [#]
<i>Anaerobic bact.</i>	1.87 ± 0.26	1.8 ± 0.24 [#]
<i>Proteus</i>	0 ± 0	0.1 ± 0.04 [#]

Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$: Որպես կոմպենսացիայի չափանիշ ընդունվել է գլիկոզիլացված հեմոգլոբինը՝ HbA1C < 7.5:

Միաժամանակ հիվանդների աղիքային ֆլորայի նմուշներում արձանագրվել է *Candida* ցեղի սնկերի քանակների աճ (0.17 ընդդեմ 0.77, $p=0.0015$) և ի հայտ է եկել պաթոգեն *S. aureus*-ը (0 ընդդեմ 0.34, $p=0.0017$) (աղյուսակ 1): Հայտնի է, որ *S. aureus*-ը և *C. albicans*-ը մրցակցում են ինդիգեն ֆլորայի հետ, և կարող են նպաստել աղիներում օգտակար բակտերիաների քանակների նվազմանը: Հատկանշական է, որ հիվանդության տևական անամենեզով հիվանդների և առաջնային հայտնաբերվածների միկրոֆլորայի ցուցանիշների համեմատությունում չեն հայտնաբերվել վիճակագրորեն հավաստի տեղաշարժեր:

Աղիքային միկրոֆլորայի պայմանական ախտածին ներկայացուցիչների քանակների՝ առավել ակնառու տեղաշարժեր են արձանագրվել՝ կախված դիաբետի կոմպենսացիայի աստիճանից: Այսպես, դեկոմպենսացված հիվանդների աղիքային ֆլորայի նմուշներում դիտվել է *Candida* ցեղի սնկերի (1.2 ընդդեմ 0.17, $p=0.0008$) և *S.aureus*-ի (0.52 ընդդեմ 0.11, $p=0.032$) քանակների վիճակագրորեն հավաստի աճ՝ համեմատած կոմպենսացված հիվանդների (աղյուսակ 2): Հայտնաբերվել է դրական կոռելյացիոն կապ վերոնշյալ հարուցիչների քանակների և գլյուկոզայի միջին ցուցանիշների միջև (*Candida spp.*, $r=+0.375$, $p<0.0001$, *S.aureus*, $r=+0.232$, $p=0.0006$): Հիվանդների այս ենթախմբերում միկրոֆլորայի այլ հարուցիչների քանակների վիճակագրորեն հավաստի տեղաշարժեր չեն արձանագրվել (աղյուսակ 2):

Նկար 1. Արգինազի ենթաբջջային ակտիվությունը պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում՝ ՏՇԴ-ով հիվանդների շրջանում՝ կախված հիվանդության կոմպենսացիայի աստիճանից:



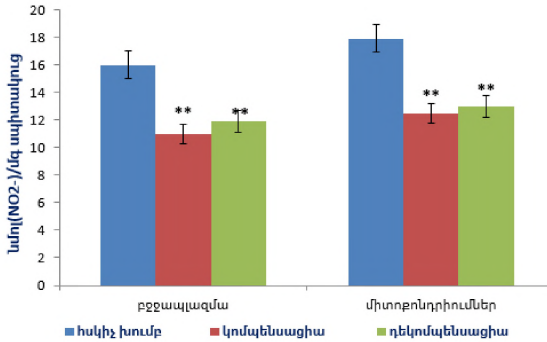
Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$. # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$:

Մենք ուսումնասիրել ենք ՏՇԴ-ով հիվանդների պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում արգինազի իզոմերների ակտիվությունը, որոնք ճեղքում են

արգինինը միզանյութի և օրնիտինի՝ միաժամանակ ազդելով NOS-ի գործունեության վրա: Նկար 1-ում ցուցադրված է լեյկոցիտների ենթաբջջային ֆրակցիաներում արգինազային ակտիվության տեղաշարժերը՝ կախված հիվանդների մոտ ածխաջրային փոխանակության կոմպենսացիայի աստիճանից: Ինչպես երևում է նկարից, և՛ կոմպենսացված, և՛ դեկոմպենսացված հիվանդների մոտ, ի համեմատ առողջների, դիտվել է Ա1-ի ակտիվության աճ՝ 1.7 և 2.1 անգամ և Ա2-ի ակտիվության աճ՝ 1.7 և 1.9 անգամ համապատասխանաբար: Հետաքրքրական է, որ դեկոմպենսացված հիվանդների մոտ արգինազի իզոնների ակտիվությունը գերազանցում է կոմպենսացված հիվանդների նույն ցուցանիշներին, ինչն, ամենայն հավանականությամբ, պայմանավորված է նրանց մոտ արյան մեջ գլյուկոզայի առավել բարձր ցուցանիշներով: Հայտնի է, որ Ա1-ն առավելապես ներկայացված է հակաբորբոքային ազդեցությամբ օժտված M2 մակրոֆագերում, մինչդեռ Ա2-ն ունի կարևոր դեր հենց բորբոքային՝ M1 մակրոֆագերում, որոնց փոխարկումը M2-ի բերում է S1C7-ի զարգացման մեխանիզմների հետաձգմանը: Արգինազի իզոնների խթանումը լեյկոցիտներում S1C7-ի ժամանակ, ամենայն հավանականությամբ, պայմանավորված է հիվանդության զարգացման մեխանիզմներում ներգրավված բորբոքային ազեոնների, ինչպես նաև՝ թթվածնի ազատ ռադիկալների գերարտադրությամբ, որոնք նպաստում են վերջիններիս էքսպրեսիային և ակտիվացմանը: Ա2-ը նույնպես խթանում է թթվածնի ակտիվ միացությունների արտադրությունը և այդ ուղով միաժամանակ կարող է ակտիվացնել Ա1-ը: Ա1-ի ակտիվության աճը կարող է բացատրվել նաև նրա՝ հնարավոր պաշտպանական նշանակությամբ՝ որպես հակակշիռ բջջային աուտոագրեսիային: Զուգահեռաբար, նույն խմբերում լեյկոցիտների բջջապլազմային և միտոքոնդրիալ ֆրակցիաներում, դիտվել է NO-ի կայուն մետաբոլիտների քանակների վիճակագրորեն հավաստի անկում՝ 1.5 և 1.4 անգամ՝ կոմպենսացված հիվանդների մոտ և 1.3 ու 1.4 անգամ՝ դեկոմպենսացվածների շրջանում (նկար 2):

Այսպիսով՝ երկու դեպքում էլ դիտվել են արգինազի իզոնների ակտիվության և NO-սինթազային ռեակցիայի արգասիք նիտրիտների քանակների՝ փոխկապակցված ենթաբջջային տեղաշարժեր: Արգինազը կարող է ճնշել ինդուկցվող NOS-ի ակտիվությունը արգինինի ու տետրահիդրոբիոպտերինի քանակների նվազմամբ և միզանյութի առաջացմամբ: Վերջինս արգելակում է NOS-ի մոնոմերների ագրեգացումն ակտիվ դիմերների: Սահմանափակելով արգինինի պարունակությունը՝ արգինազը ոչ միայն նվազեցնում է NOS/NO-ի արտադրությունը, այլև՝ տարանջատում NOS-ը սուբստրատից՝ գործարկելով NOS-կախյալ սուպերօքսիդ անիոնի արտադրությունը, որն էլ, հնարավոր է, իր ներդրումն ունի ազատ ռադիկալների առաջացման և օքսիդատիվ սթրեսի զարգացման գործընթացներում S1C7-ի ժամանակ:

Նկար 2. NO/նիտրիտների ենթաբջջային մակարդակները պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում՝ S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում՝ կախված հիվանդության կոմպենսացիայի աստիճանից:



Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$. # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$:

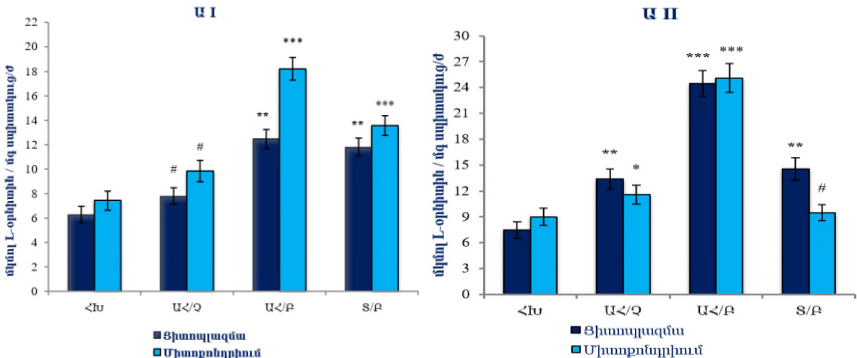
Մենք ուսումնասիրել ենք L-արգինինի նյութափոխանակային ուղիները լեյկոցիտներում՝ S1ՇԴ-ի մանիֆեստացիայի ժամանակ՝ ինսուլինաթերապիա դեռևս չստացած հիվանդների մոտ, մինչև մեկ տարի ինսուլինի ամենօրյա ենթամաշկային ներարկումներ ստացողների մոտ և հիվանդության տևական անամնեզով անձանց մոտ, որոնք ստացել են ինսուլինաթերապիա մինչև տասը տարի: Հետազոտվող խմբերը բաժանվել են ըստ տարիքի (I խումբ-երեխաներ և նախադեռահասներ՝ 5.0-12 տարեկան, II խումբ-դեռահասներ ու երիտասարդներ՝ 12-25 տարեկան) և սեռի (տղաներ՝ S. և աղջիկներ՝ Ա.): Հիվանդները բաժանվել են 3 ենթախմբերի. առաջնային հայտնաբերված հիվանդներ, որոնք դեռ չեն ստացել ինսուլինաթերապիա (ԱՀ-2), առաջնային հայտնաբերված հիվանդներ, որոնք մինչև մեկ տարի ստացել են ինսուլինաթերապիա (ԱՀ-Բ), հիվանդության տևական անամնեզ ունեցողներ (S-Բ), որոնք ստացել են ինսուլինաթերապիա ավելի քան մեկ տարի և համեմատվել են առողջների հետ (հսկիչ խումբ՝ ՀԽ), որոնք համապատասխանում են նրանց ըստ տարիքի և սեռի:

S1ՇԴ-ով բոլոր հիվանդների մոտ արձանագրվել է արգինազի երկու իզոմերների ակտիվության աճ, հավանաբար՝ արտաբջջային D-գլյուկոզայի բարձր քանակների պատճառով, որը խթանում է ՆԱԴՖՀ օքսիդազի ակտիվությունը, ԹԱՄ-ի արտադրությունը և L-արգինինի տրանսպորտը բջիջներ՝ այդ կերպ նպաստելով արգինազի իզոմերների էքսպրեսիային և ակտիվացմանը: Լեյկոցիտներում արգինազի ակտիվության աճի հնարավոր պատճառներից է նաև աղիներում Candida ցեղի սնկերի (այդ թվում՝ C. albicans-ի) քանակների աճը, ինչը մենք արձանագրել ենք S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում: Հայտնի է, որ

արյան մեջ գյուկոզայի կոնցենտրացիան ուղղակիորեն կապված է *Candida albicans*-ի քանակների աճի հետ շաքարային դիաբետով դեկոմպենսացված հիվանդների շրջանում: Բացի այդ, *Candida albicans*-ը արգելակում է մակրոֆագերում NO-ի արտադրությունը՝ խթանելով տիրոջ արգինազային ակտիվությունը, մինչդեռ Ա1-ի ակտիվության նվազումը տիրոջ մոտ բերում է NO-ի քանակների վերականգմանը և մակրոֆագերի քայքայիչ ունակության աճին:

Օքսիդատիվ սթրեսի ճնշմամբ, ինսուլինը կարող է արգելակել արգինազի իզոնները, սակայն այս էֆեկտը մենք տեսել ենք միայն աղջիկների շրջանում, այն էլ՝ դեռահասների և երիտասարդների մոտ, ինչը ենթադրաբար պայմանավորված է իզական սեռական հորմոնների կողմից ինսուլինի ազդեցության խթանմամբ: Այսպիսով՝ ՏՇԴ-ով դեռահաս և երիտասարդ աղջիկների մոտ երկարատև ինսուլինաթերապիան արդյունավետորեն կարգավորում է Ա1-ի և Ա2-ի ակտիվությունները, իսկ հավասարակշռությունը շեղվում է դեպի Ա1-ի կողմը, որն անհրաժեշտ է M2 մակրոֆագերի հակաբորբոքային, ինչպես նաև նեյտրոֆիլների հակասնկային ակտիվության համար (նկար 3):

Նկար 3. Արգինազի ենթաբջջային ակտիվության տարիք-ասոցացված տեղաշարժերը պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում՝ ՏՇԴ-ով հիվանդ աղջիկների շրջանում:

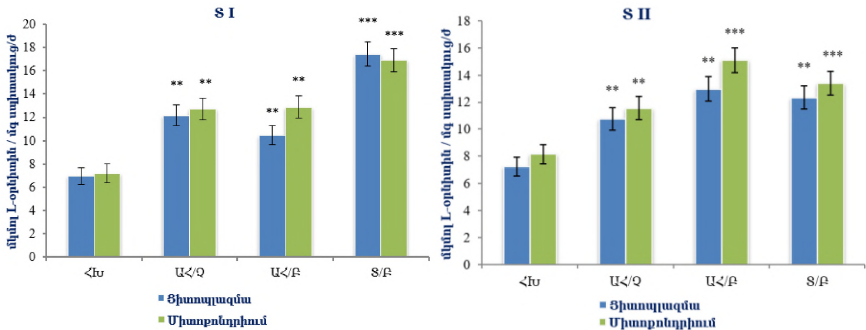


Ա1-երեխա և նախադեռահաս աղջիկներ, ԱII-դեռահաս և երիտասարդ աղջիկներ, ՏՇԴ-ն առաջնային հայտնաբերվածներ (Ա<), բուժում չստացածներ (Ա<-2), կարճատև ինսուլինաթերապիա ստացածներ (Ա<-Բ), տևական ինսուլինաթերապիա ստացածներ (S-Բ), հսկիչ խումբ (<Հ): Այստեղ և ստորև նկարներում արդյունքները ներկայացված են, որպես $M \pm SEM$, և դրանց հավաստիությունը (p) գնահատվել է ստուգիչի համեմատ: Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$:

Երեխաների և նախադեռահասների շրջանում տևական ինսուլինաթերապիան չի ազդում Ա1-ի ակտիվության վրա, մինչդեռ բերում է Ա2-ի ակտիվության անկմանը, թեև վերջինս շարունակում է մնալ երկու անգամ բարձր՝

համեմատած ՀԽ-ի հետ (նկար 3): Հարկ է նշել, որ միտոքոնդրիոմներում Ա2-ը մասնակցում է օրնիտինի սինթեզին, որն ուղղվում է դեպի պրոլինի և գլյուտամատի սինթեզ՝ օրնիտին ամինոտրանսֆերազի մասնակցությամբ, մինչդեռ բջջապլազմայում Ա1-ը ներգրավված է պոլիամինների սինթեզում՝ օրնիտին դեկարբոքսիլազայի միջնորդությամբ: Միտոքոնդրիալ արգինազը կարող է նպաստել մակրոֆագերի պրոբոբոբային պատասխանին NO-անկախ ճանապարհով՝ խթանելով միտոքոնդրիոմներում ԹԱՄ-ի սինթեզը, որոնք էլ նպաստում են ինսուլինառեզիստենտականությանը և աթերոգենեզին շաքարային դիաբետով հիվանդների մոտ: Հատկանշական է, որ պոլիամինների սինթեզի պաշարումն ունի պաշտպանական նշանակություն ենթաստամոքսային գեղձում ինսուլինի սինթեզի համար պատասխանատու β -բջիջների համար, քանի որ նպաստում է պանկրեատիկ լիմֆատիկ հանգույցներում դիաբետոգեն՝ Th17 բջիջների քանակների նվազմանը, ինչը ցուցադրվել է ճարպակալում չունեցող դիաբետիկ մկների մոդելներում:

Նկար 4. Արգինազի ենթաբջջային ակտիվության տարիք-ասոցացված տեղաշարժերը պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում՝ S1C7-ով հիվանդ տղաների շրջանում:

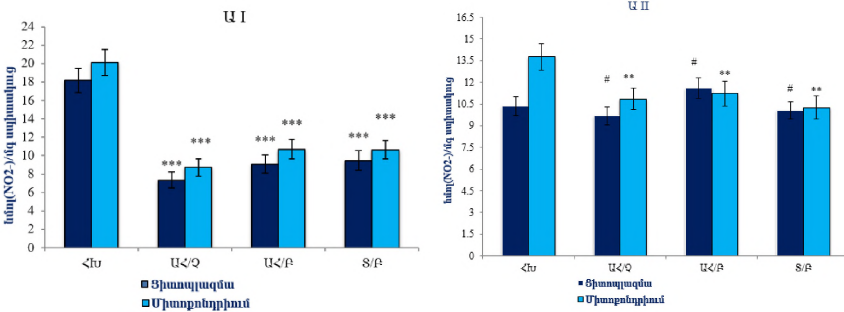


S1-երեխա և նախադեռահաս տղաներ, SII-դեռահաս և երիտասարդ տղաներ (SII), S1C7-ն առաջնային հայտնաբերվածներ (ԱՀ), բուժում չստացածներ (ԱՀ-2), կարճատև ինսուլինաթերապիա ստացածներ (ԱՀ-Բ), տևական ինսուլինաթերապիա ստացածներ (Տ-Բ), հսկիչ խումբ (ՀԽ): Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$:

Ի հակառակ աղջիկների, S1C7-ով հիվանդ երեխա/նախադեռահաս տղաների մոտ, տևական ինսուլինաթերապիայի ֆոնին պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում արձանագրվել է արգինազի ակտիվության ավելի մեծ աճ՝ համեմատած մինչև մեկ տարի ինսուլինաթերապիա ստացողների հետ: Արգինազի բարձր ակտիվությունը պահպանվել է նաև դեռահաս/երիտասարդ

տղաների շրջանում (նկար 4): Արգինազի բարձր ակտիվությունը կարող է բերել NOS-ի ակտիվության անկմանը, այդ կերպ նվազեցնելով NO-ի արտադրությունն ու կենսահասանելիությունը, ինչն էլ նպաստում է միկրովասկուլյար բարդությունների զարգացմանը թե՛ տիպ 1, և թե՛ տիպ 2 շաքարային դիաբետով հիվանդների շրջանում: Մեր կողմից ստացված տվյալները վկայում են, արգինազի իզոնների ակտիվության աճը S1ՇԴ-ով հիվանդների շրջանում ուղեկցվում է նիտրիտների կոնցենտրացիաների՝ սեռ- և տարիք-ասոցացված տեղաշարժերով:

Նկար 5. NO/նիտրիտների ենթաբջջային մակարդակների տարիք-ասոցացված տեղաշարժերը պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում՝ S1ՇԴ-ով հիվանդ աղջիկների շրջանում:

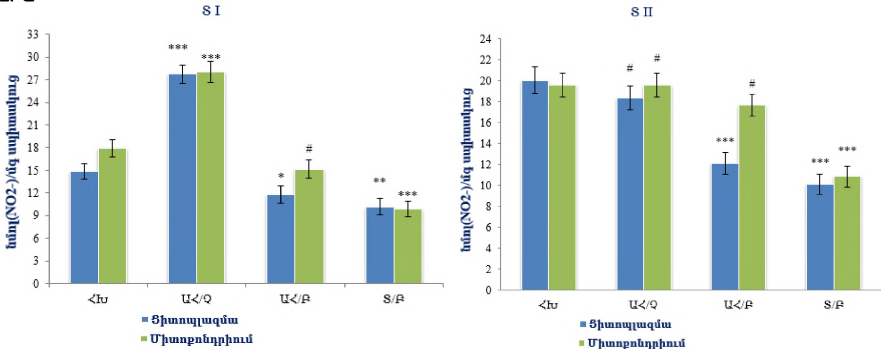


ԱI-երեխա և նախադեռահաս աղջիկներ, ԱII-դեռահաս և երիտասարդ աղջիկներ, S1ՇԴ-ն առաջնային հայտնաբերվածներ (Ա<Չ), բուժում չստացածներ (Ա<Չ-2), կարճատև ինսուլինաթերապիա ստացածներ (Ա<Չ-Ք), տևական ինսուլինաթերապիա ստացածներ (Տ-Ք), հսկիչ խումբ (<N>): Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$:

Այսպես, S1ՇԴ-ով երեխա/նախադեռահաս աղջիկների շրջանում լեյկոցիտների թե՛ բջջապլազմային, և թե՛ միտոքոնոդրիալ ֆրակցիաներում, հիվանդության մանիֆեստացիայի ժամանակ դիտվել է նիտրիտների կոնցենտրացիաների նշանակալի անկում, ինչը կարող է ասոցացվել էնդոգեն NO-ի սինթեզի ընկճման հետ (նկար 5): Դեռահաս/երիտասարդ աղջիկների շրջանում այս տեղաշարժերը բացակայում են, ենթադրաբար՝ էստրոգենների և սեռական այլ հորմոնների բարձրացող քանակների պատճառով, որոնք կարող են խթանել NOS-ը, մասնավորապես՝ լեյկոցիտներում: Հայտնի է, որ էստրադիոլ կարող է խթանել նեյտրոֆիլների կողմից NO-ի սինթեզը՝ այդ կերպ կանխելով սիրտանոթային հիվանդությունների զարգացումը: Բացի այդ, էնդոթելիալ NOS-ը, ի լրումն արդեն հայտնի՝ էստրոգեն-կախյալ խթանմանը, կոնստիտուցիոնալ կերպով ներկայացված է առավելապես իզական սեռի շրջանում. կանանց

օրգանիզմում էնդոթելիալ բջիջները սինթեզում են ավելի շատ էնդոթելիալ NO-սինթազային մատրիցային ՌՆԹ, քան տղամարդկանց մոտ:

Նկար 6. NO/նիտրիտների ենթաբջջային մակարդակների տարիք-ասոցացված տեղաշարժերը պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում՝ ՏՇԴ-ով հիվանդ տղաների շրջանում:



SI-երեխա և նախադեռահաս տղաներ, SII-դեռահաս և երիտասարդ տղաներ (SII), ՏՇԴ-ն առաջնային հայտնաբերվածներ (U<lt;lt>), բուժում չստացածներ (U<lt;lt>Q), կարճատև ինսուլինաթերապիա ստացածներ (U<lt;lt>P), տևական ինսուլինաթերապիա ստացածներ (S-P), հսկիչ խումբ (<lt;lt>): Հավաստիության չափանիշ՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$:

Միևնույն ժամանակ, երեխա/նախադեռահաս տղաների շրջանում լեյկոցիտների ենթաբջջային ֆրակցիաներում և արյան պլազմայում, հիվանդության մանիֆեստի ժամանակ արձանագրվել է նիտրիտների քանակների նշանակալի աճ, հետագա նվազմամբ՝ ինսուլինաթերապիային զուգահեռ (նկար 6): <lt;lt>տաքքիբ է, որ դեռահաս և երիտասարդ տղաների մոտ հիվանդության մանիֆեստի ժամանակ նիտրիտների կոնցենտրացիաների փոփոխություններ չեն արձանագրվել, սակայն նվազել են ինսուլինաթերապիայի ընթացքում (համեմատած <lt;lt>-ի հետ): Պետք է նշել, որ NOS/NO-ն ունի պաշտպանական նշանակություն β -բջիջների համար, քանի որ ընկճում է ԴՆԹ-ի վնասման ազդանշանային համակարգը և նվազեցնում ապոպտոզը:

ՏՇԴ-ով հիվանդների շրջանում ինսուլինաթերապիայի ֆոնին, լեյկոցիտներում և արյան պլազմայում նիտրիտների քանակների սեռ- և տարիք-ասոցացված տեղաշարժերը, որոնք փոխկապակցված են նիտրերգիկ համակարգի և արգինազի իզոնների ակտիվության փոփոխությունների հետ, կարող են մասամբ վերագրվել սեռական հորմոնների ազդեցությանը՝ ինսուլինի ֆունկցիաների ռեգուլյացիային, ինչը տեղի ունի ուղղակի՝ ինսուլին-կախյալ հյուսվածքների միջոցով և անուղղակի՝ միջնորդավորված օքսիդատիվ սթրեսով:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. S1ՇԴ-ով հիվանդների մոտ դիտվում է աղիքային միկրոֆլորայի օբլիգատ շտամերի (*E.Coli*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*) քանակների նվազում և պայմանական ախտածին մանրէների (*Candida* ցեղի սնկեր, *S.aureus*, *Clostridium spp.*) քանակների աճ՝ անկախ սեռից և տարիքից:
2. S1ՇԴ-ով հիվանդների մոտ դիտվում է դրական կոռեկցիոն կապ՝ *Candida* ցեղի սնկերի, *S.aureus*-ի քանակների և գլիկոզիլացված հեմոգլոբինի (HbA1C) մակարդակների միջև՝ անկախ սեռից և տարիքից:
3. S1ՇԴ-ով հիվանդների մոտ տևական ինսուլինաթերապիան ցուցաբերում է միայն մասնակի բարերար ազդեցություն աղիքային միկրոբիոտայի քանակական և որակական տեղաշարժերի վրա՝ անկախ սեռից և տարիքից:
4. Նախադեռահասների և երիտասարդների տարիքային խմբերում S1ՇԴ-ով հիվանդների մոտ աճում է արգինազի բջջապլազմային և միտոքոնդրիալ իզոնների ակտիվությունը լեյկոցիտներում՝ անկախ սեռից: Տևական ինսուլինաթերապիան աղջիկների երկու տարիքային խմբերում կարգավորում է արգինազի բջջապլազմային և միտոքոնդրիալ իզոնների ակտիվությունը լեյկոցիտներում: Կարճատև և տևական ինսուլինաթերապիան S1ՇԴ-ով հիվանդ տղաների մոտ չի ազդում արգինազի ակտիվության աճի վրա լեյկոցիտներում:
5. S1ՇԴ-ով հիվանդ աղջիկների երկու տարիքային խմբերում լեյկոցիտների բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում նվազում են նիտրիտների մակարդակները: Երեխա/նախադեռահաս տղաների մոտ հիվանդության մանիֆեստի ժամանակ նիտրիտների ենթաբջջային մակարդակներն աճում են, ինչը չի դիտվում դեռահաս/երիտասարդ տղաների մոտ: Երկու տարիքային խմբերում էլ կարճատև և տևական ինսուլինաթերապիան չի կանխում նիտրիտների ենթաբջջային մակարդակների անկումը լեյկոցիտներում՝ անկախ սեռից:

Ատենախոսության շրջանակներում հրապարակված աշխատանքներ

1. **Աղաջանովա Ե., Մելքոնյան Ա.** Աղիքային միկրոֆլորան տիպ 1 շաքարային դիաբետի պաթոգենեզում // Բժշկություն, Գիտություն և Կրթություն, հոկտեմբեր 2017, N23: էջեր 73-77.
2. **Melkonyan A., Alchujyan N., Hovhannisyan M., Aghajanova E.** Changes in gut microbiota and arginase intracellular activity in the leukocytes in patients with type 1 diabetes. The New Armenian Medical Journal, 2017, Vol 11, Supp. 3 (abstract).
3. **Aghajanova Y., Melkonyan A., Alchujyan N., Hovhannisyan M., Bayburdyan G., Navasardyan L., Markosyan R.** Alterations in intestinal microbiota and

- arginase activity in leukocytes of type 1 diabetes patients. 20 th European Congress of Endocrinology, Endocrine Abstracts, May 2018, Vol. 56, EP 66. (abstract).
4. **Մելքոնյան Ա.** Աղիքային միկրոֆլորայի և արյան մեջ արգինինի նյութափոխանակության տեղաշարժերը տիպ 1 շաքարային դիաբետով հիվանդների շրջանում // Տեսական և Կլինիկական Բժշկության հարցեր, Հոկտեմբեր 2018, N4, էջեր 8-13.
 5. **Մելքոնյան Ա., Աղաջանովա Ե., Բայբուրդյան Գ., Մարկոսյան Ռ., Նավասարդյան Լ., Հովհաննիսյան Մ., Ալչուջյան Ն.** Աղիքային միկրոֆլորայի և արյան մեջ արգինինի նյութափոխանակության տեղաշարժերը տիպ 1 շաքարային դիաբետով հիվանդների շրջանում (թեզիս) // 5imca նյութերի ժողովածու, հուլիս 2019, էջեր 90-91.
 6. **Մելքոնյան Ա., Գևորգյան Զ., Մնացականյան Ա., Բայբուրդյան Գ., Նավասարդյան Լ., Աղաջանովա Ե.** Աղիքային միկրոֆլորայի քանակական և որակական տեղաշարժերը տիպ 1 շաքարային դիաբետով հիվանդ երեխաների և երիտասարդների շրջանում // Հայաստանի բժշկագիտություն, Դեկտեմբեր 2019, N4, էջեր 42-57.
 7. **Melkonyan A., Geuvorkyan A., Alchujyan N., Hovhannisyan M., Movsesyan N., Hayrapetyan H., Kevorkian G., Aghajanova Y.** Sex and age-related changes in L-arginine metabolism in peripheral blood leukocytes in young caucasians with type 1 diabetes mellitus. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics. June 2020, Vol.57(3), pg. 339-350.
 8. **Aghajanova Y., Melkonyan A., Alchujyan N., Bayburdyan G., Hovhannisyan M., Navasardyan L., Markosyan R., Kalantaryan L., Issa V., Arakelyan. L.** L-Arginine metabolism and gut microbiota changes in pediatric patients with type 1 diabetes. 22 th e-European Congress of Endocrinology, Endocrine abstracts, Sep. 2020, Vol.70, AEP 391.
 9. **Alchujyan N., Hovhannisyan M., Movsesyan N., Melkonyan A., Shaboyan V., Aghajanova Y., Minasyan G., Kevorkian G.** Sexual dimorphism in alternative metabolic pathways of L-Arginine in circulating leukocytes in young people with type 1 diabetes mellitus. Endocrine Research. May 2021, pg. 1-11.

РЕЗЮМЕ

Мелконян Артур Мушегович

Сдвиги микрофлоры кишечника и метаболизма L-аргинина в лейкоцитах больных сахарным диабетом первого типа

У больных сахарным диабетом первого типа (СД1Т) (5–25 лет) выявлены нарушения микрофлоры кишечника и метаболизма L-аргинина в лейкоцитах крови и плазме. Число облигатных микроорганизмов (*E. coli*, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. и др.) снижалось с одновременным возрастанием условно-патогенных микробов и появлением патогенов (*Candida* spp., *Clostridium* spp., *S. aureus* и др.). Прямая корреляция наблюдалась между уровнем гликозилированного гемоглобина (HbA1c) и числом *Candida* spp. и *S. aureus*. Инсулинотерапия оказывала лишь частичное благотворное влияние на качественный и количественный состав кишечной микробиоты независимо от продолжительности болезни (от манифестации СД1Т - до 10 лет).

В лейкоцитах периферической крови больных с начальным СД1Т (в среднем 0.5 лет) возрастала активность обеих изоформ аргиназы, цитоплазматической (A1) и митохондриальной (A2), которые участвуют в иммунном ответе и, лимитируя содержание L-аргинина, могут запускать механизмы инсулинорезистентности и атерогенеза. При длительном СД1Т (в среднем 5.5 лет) в группе детей/ препубертатных девочек (5-11 лет) инсулинотерапия не влияла на активность A1 изоформы и лишь частично снижала активность A2, а в группе подростков/молодых девушек (12-25 лет) она нормализовала активность обеих изоформ. В соответствующих возрастных группах лиц мужского пола инсулин не снижал повышенную активность изоформ аргиназы лейкоцитов, а при длительном диабете их активность еще больше возрастала у мальчиков до подросткового возраста при длительном диабете.

На фоне возросшей аргиназной активности в лейкоцитах наблюдалось снижение субклеточного уровня биодоступного оксида азота (NO)/нитритов и L-цитруллина, продуктов синтазы оксида азота (NOS), которая участвует в иммунном ответе и реципрочно связана с аргиназой. У детей/девочек препубертатного возраста содержание NO/нитритов в цитоплазме и митохондриях устойчиво снижалось, а в старшей возрастной женской группе оно не изменялось в цитоплазме и снижалось в митохондриях независимо от продолжительности СД1Т и терапии инсулином. У детей/мальчиков до подросткового возраста при манифестации болезни, субклеточное содержание NO/нитритов возрастало в лейкоцитах, при отсутствии изменений у подростков/молодых людей. Однако, с развитием болезни на фоне оксидативного стресса в обеих возрастных группах

мужчин уровень NO/нитритов в цитоплазме лейкоцитов падал ниже нормы при начальном СД1Т, и в обеих клеточных компартментах - при длительном СД1Т.

У детей/препубертатных девочек уровень L-цитруллина также снижался в цитоплазме и митохондриях лейкоцитов независимо от продолжительности диабета, тогда как у подростков/молодых девушек его колебания были незначительны. У детей/мальчиков допубертатного возраста изменений в содержании L-цитруллина не отмечалось независимо от продолжительности СД1Т и лечения инсулином, а у подростков/молодых людей, его субклеточный уровень снижался при начальном СД1Т, но нормализовался при длительном благодаря инсулинотерапии. Половые и возрастные различия в содержании цитруллина и нитритов в лейкоцитах пациентов с СД1Т, отчасти отражают явление полового диморфизма эндотелиальной NOS человека. В плазме крови нарушения внутриклеточных превращений L-аргинина были менее выражены или не проявлялись и отличались от сдвигов, наблюдаемых в лейкоцитах.

Таким образом, при СД1Т выявлены нарушения кишечной микробиоты, которые в цитоплазме и митохондриях циркулирующих лейкоцитов сопровождаются сдвигами аргиназной активности и нитрегенерического ответа, зависящими от пола и полового созревания, длительности болезни и инсулинотерапии. Полученные данные могут быть в дальнейшем использованы для оценки течения болезни и эффективности лечения, а также в разработке таргетной иммунотерапии с учетом специфики альтернативного метаболизма L-аргинина при СД1Т.

SUMMARY

Melkonyan Artur Mushegh

Changes in the gut microbiota nad L-arginine metabolism in the leukocytes of patients with type 1 diabetes mellitus

Disorders of intestinal microflora and L-arginine metabolism in blood leukocytes and plasma were found in patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM) (5–25 years old). The number of obligate microorganisms (*E. coli*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, etc.) decreased with a simultaneous increase in opportunistic microbes and the appearance of pathogens (*Candida spp.*, *Clostridium spp.*, *S. aureus*, etc.). A direct correlation was observed between the level of glycosylated hemoglobin (HbA1c) and the number of *Candida spp.* and *S. aureus*. Insulin therapy had only a partial beneficial effect on the qualitative and quantitative composition of the gut microbiota, regardless of the duration of the disease (from the manifestation of T1DM - up to 10 years).

At the same time, an increased activity of both isoforms of arginase, cytoplasmic (A1) and mitochondrial (A2), was observed in the peripheral blood leukocytes of patients with new-onset T1DM (average 0.5 years). These isoforms are involved in the immune response and, by limiting the content of L-arginine, can trigger the mechanisms of insulin resistance and atherogenesis. Insulin partially reduced the activity of A2, but not A1 in children/preadolescent girls (5-11 years old) with long-term T1DM (average 5.5 years), and normalized the activity of both isoforms in adolescents/young girls (12-25 years old). In the corresponding age groups of males, insulin did not reduce the increased activity of leukocyte arginase isoforms. Moreover, in preadolescent boys with long-term T1DM, the activity of isoforms increased even more.

Along with the increased activity of arginase in leukocytes, we observed a decrease in subcellular levels of bioavailable nitric oxide (NO)/nitrite and L-citrulline, products of nitric oxide synthase (NOS), which is involved in the immune response and is reciprocally linked to arginase. In children/preadolescent girls with T1DM, the content of NO/nitrite persistently dropped in the cytoplasm and mitochondria of leukocytes, and in the senior female group it was not changed in the cytoplasm and decreased much less in mitochondria, regardless of the duration of T1DM and insulin therapy. In children/preadolescent boys with manifestation of T1DM, the subcellular content of nitrites increased, but not in adolescents/young patients. With the development of disease and oxidative stress of both age groups of boys, the level of NO/nitrite in the cytoplasm of leukocytes decreased below normal in patients with new-onset T1DM, and in both cell compartments - in patients with long-term T1DM.

The level of L-citrulline also decreased in the cytoplasm and mitochondria of leukocytes of children/preadolescent girls, regardless of the duration of diabetes, while in adolescents/young girls its fluctuations were insignificant. In children/preadolescent boys, no changes in the L-citrulline content were observed regardless of the duration of T1DM and insulin treatment, but its subcellular level decreased in adolescents/young people with new-onset T1DM and returned to normal with prolonged T1DM and insulin therapy. Sex and age differences in the content of citrulline and NO/nitrite in leukocytes of patients with T1DM, apparently, partly reflect the phenomenon of sexual dimorphism of human endothelial NOS. In blood plasma, changes in the intracellular conversions of L-arginine were less pronounced or did not appear and differed from the changes observed in the leukocyte.

Thus, in T1DM, gut microbiota disorders were revealed, which are accompanied by changes in arginase activity and nitregeric response in the cytoplasm and mitochondria of circulating leukocytes, depending on gender and puberty, and also the duration of the disease and insulin therapy. The data obtained can be further used to assess the course of the disease and the effectiveness of treatment, as well as in developing targeted immunotherapy, taking into account the specificity of the alternative metabolism of L-arginine in T1DM.