

ԵՐԵՎԱՆԻ ՄԻԻԹԱՐ ՀԵՐԱՑՈՒ ԱՆՎԱՆ ՊԵՏԱԿԱՆ
ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԱՂԱՄՅԱՆ ՆԱԻՐԱ ՀԱՅԿԻ

ՆԵՅՐՈՊԱԹԻԿ ՑԱՎԻ ԿԱՌԱՎԱՐՈՒՄԸ ՆՈՐ ՍԻՆԹԵԶՎԱԾ
ԳԱԿԹ ՊԻՐՈԳԼՈՒՆՏԱՄԱՏԱՅԻՆ ԿԱՐՃ ՊԵՊՏԻԴՆԵՐՈՎ

ԺԴ.00.14 – «Դեղաբանություն» մասնագիտությամբ
Դեղագործական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2024

ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М. ГЕРАЦИ

АДАМЯН НАИРА АЙКОВНА

СИНТЕЗИРОВАННЫЕ НОВЫЕ КОРОТКИЕ ПЕПТИДЫ
ГАМК И ПИРОГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В УПРАВЛЕНИИ
НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ БОЛИ

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук по специальности
14.00.14 - «Фармакология»

ЕРЕВАН 2024

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի Մխիթար Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանում:

Գիտական ղեկավար՝

դեղագործական գիտությունների դոկտոր,
պրոֆեսոր Մ.Գ. Բալասանյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

կենսաբանական գիտությունների դոկտոր,
պրոֆեսոր Ա.Ս. Հովհաննիսյան
դեղագործական գիտությունների թեկնածու,
դոցենտ Շ.Գ. Աֆրիկյան

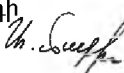
Առաջատար կազմակերպություն՝

ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական
քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոն

Պաշտպանությունը կայանալու է 2024թ. սեպտեմբերի 12-ին ժամը 15⁰⁰-ին Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանի գործող ԲՈԿ-ի 026 «Տեսական բժշկություն» մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, ք. Երևան, 0025, Կորյունի 2):

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

Սեղմագիրն առաքվել է 2024թ. հուլիսի 4-ին:

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

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном медицинском университете имени Мхитара Гераци.

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук,
профессор М.Г. Баласанян

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,
профессор А.С. Оганесян
кандидат фармацевтических наук,
доцент Ш.Г. Африкян

Ведущая организация:

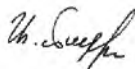
Научно технологический центр
органической и фарм. химии НАН РА

Защита диссертации состоится 12 сентября 2024г. в 15⁰⁰ на заседании специализированного совета 026 «Теоретическая медицина» ВАК РА при Ереванском государственном медицинском университете имени М. Гераци (РА, г. Ереван, 0025, ул. Корюна 2).

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

Автореферат разослан 4 июля 2024г.

Ученый секретарь
специализированного совета



доктор биологических наук,
профессор А.С. Тер-Маркосян

Թեմայի արդիականությունը

Նեյրոպաթիկ ցավի կառավարման համար նոր դեղերի փնտրտույքը շարունակում է մնալ ժամանակակից բժշկության կարևորագույն խնդիրներից մեկը, քանի որ զարգացող սոմատոսենսորի համակարգի դիսֆունկցիան և զգայական խանգարումները՝ հիպերալգեզիան և ալոդինիան, ինչպես նաև բուժման նկատմամբ տոլեռանտությունը վատթարացնում են միլիոնավոր մարդկանց կյանքի որակը (Cui C. et al., 2022): Ունենալով քրոնիկ ընթացք և բարդ կառավարում, այս ցավերը էապես ազդում են հասարակության ինչպես սոցիալական, այնպես էլ տնտեսական և հոգեբանական գործոնների վրա (Pricope C. et al., 2022): Նեյրոպաթիկ ցավերի դրսևորման բարձր հաճախականությունը և երկրի բնակչության մոտ 10%-ի ընդգրկվածությունը հիմնականում պայմանավորված է նաև այն հանգամանքով, որ դրանք հանդիսանում են ոչ միայն ինքնուրույն հիվանդություններ, այլև ուղեկցում են մի շարք հիվանդությունների, ինչպիսիք են շաքարային դիաբետը, վիրուսային ինֆեկցիաները, ցրված սկլերոզը և այլն (Smith P., 2023): Սակայն, չնայած ցավազրկող դեղերի լայն տեսականու, կիրառվող հայտնի միջոցները չեն ապահովում բուժման բավարար արդյունավետություն, իսկ կողմնակի ազդեցությունները հաճախ սահմանափակում են այդ դեղերի կիրառությունը (Shinu P. et al., 2022):

Բժշկագիտության ժամանակակից ուսումնասիրությունները շարունակում են հաջողությամբ բացահայտել նեյրոպաթիկ ցավի (ՆՑ) զարգացման հնարավոր մեխանիզմները, ինչի արդյունքում էլ ուրվագծվում են ՆՑ-ի կառավարման համար հիմնական թերապևտիկ ուղղությունները (Petraianu G. et al., 2023): Վերջին տասնամյակներում հատկապես առանձնահատուկ ուշադրության են արժանացել ցավի շտկման ադյուվանտներ հանդիսացող ԳԱԿԹ նմանակները՝ գաբապենտինոլները, որոնցից ՆՑ-ի կառավարման սխեմաներում նշվում են գաբապենտինը և պրեգաբալինը (Mathieson S. et al., 2020): Ապացուցողական բժշկության տվյալների համաձայն պրեգաբալինի (ՊԳԲ) ցավազրկող հատկությունները պայմանավորված են հիմնականում վերջինիս փոխազդեցությամբ Ca-անցուղիների հետ (Cao X. et al., 2023): Թեև այն ԳԱԿԹ-ի կառուցվածքային նմանակ է, սակայն ԳԱԿԹ համակարգի ակտիվությունը պայմանավորող թիրախների հետ դրա փոխազդեցության վերաբերյալ հստակեցված տվյալները բացակայում են (Cross AL, 2022): Պաշարելով Ca-անցուղիների $\alpha 2\delta$ ենթամիավորները՝ ՊԳԲ-ը բերում է դրդիչ միջնորդանյութերի Ca-կախյալ ձերբազատման ընկճմանը և նեյրոնալ գերակտիվության նվազմանը ծայրամասային, ողնուղեղային և վերողնուղեղային մակարդակներով (Finnerup

N. et al., 2021); Սակայն ՊԳԲ-ը ցուցաբերած բարձր արդյունավետության հետ մեկտեղ զերծ չէ նաև կողմնակի ազդեցություններից, որոնցից հատկապես առանձնացվում է սեդատիվ ազդեցությունը, ինչը բավական սահմանափակում է արեպարատի կիրառումը (Meaadi J. et al., 2023):

Հիմք ընդունելով ԳԱԿԹ-գլուտամատային հավասարակշռության դերը ցավի ձևավորման գործընթացներում, ինչպես նաև ՆՑ-ի կառավարման ժամանակակից ուղեցույցներում հայտնի ցավազրկողների հետ մեկտեղ ԳԱԿԹ նմանակների (պրեգաբալին, գաբապենտին) կիրառությունը (Bernatoniene J. et al., 2023), սինթեզվեցին ԳԱԿԹ և պիրոգլուտամինաթթու պարունակող կարճ պեպտիդներ, և ուսումնասիրվեց դրանց դեղաբանական ակտիվությունը:

Հետազոտության նպատակը և խնդիրները

Հետազոտության նպատակն է հանդիսացել ԳԱԿԹ պիրոգլուտամատային նոր սինթեզված կարճ պեպտիդների՝ ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի (pGlu-GABA), ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթերի (pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի) և Պիրոգլուտամիլ դիԳԱԿԹ-ի (pGlu-diGABA) դեղաբանական ակտիվության ուսումնասիրությունը:

Հետազոտության նպատակի իրականացման համար կատարվել է՝

- միացությունների ուղեղանոթային ակտիվության ուսումնասիրում՝ ուղեղի արյան շրջանառության սուր խանգարման պայմաններում, լազեր-դոպլեր հոսքաչափության մեթոդով,
- հականոցիցեպտիվ ակտիվության գնահատում՝ ինչպես առանձին պեպտիդների, այնպես էլ դրանց՝ պրեգաբալինի հետ զուգակցման պայմաններում, առնետների պոչի հետոձման «tail-flick» թեստով,
- ցավազրկող ազդեցության ուսումնասիրում՝ պրեգաբալինի հետ զուգակցման պայմաններում նստանյարդի քրոնիկ սեղմումով մակաձված նեյրոպաթիկ ցավի մոդելում, ջերմային զգայունության «hot plate» թեստով,
- նստանյարդի մորֆոլոգիական փոփոխությունների դիտարկում՝ նեյրոպաթիկ ցավի մոդելում, ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթերի օրինակով,
- դոկինգ վերլուծություն՝ GOLD և Autodock Vina ծրագրերով, բացահայտելու համար ուսումնասիրվող նյութերի դեղաբանական ազդեցության հավանական թիրախները:

Հետազոտության գիտական նորոյթը: Բացահայտվել է՝

- ԳԱԿԹ-ի և պիրոգլուտամինաթթվի դիպեպտիդի՝ ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի ուղեղանոթային ակտիվությունը, որն արտահայտվել է ուղեղի խանգարված արյունահոսքը վերականգնելու ունակությամբ,

- ԳԱԿԹ-ի և պիրոգլուտամինաթթվի նոր սինթեզված կարճ պեպտիդների՝ ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի, ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթերի և Պիրոգլուտամիլ դիԳԱԿԹ-ի հականոցիցեպտիվ ակտիվությունը և դրանց միջոցով ՊԳԲ-ի նմանատիպ ազդեցությունը պոտենցելու ունակությունը,
- ուսումնասիրված կարճ պեպտիդների և պրեգաբալինի զուգակցումների ՆՑ-ը մեղմելու հատկությունը՝ շրջանցելով ՊԳԲ-ին բնորոշ սեդատիվ կողմնակի ազդեցությունը,
- ուսումնասիրված կարճ պեպտիդների նյարդապաշտպան ազդեցությունը՝ նստանյարդի ձևաբանական տեղաշարժերը շտկելու հատկությամբ նեյրոպաթիկ ցավի մոդելում, ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթերի օրինակով,
- ուսումնասիրված կարճ պեպտիդների և ԳԱԿԹ-երգիկ համակարգի առանցքային թիրախներ ԳԱԿԹ-Բ ընկալիչների, ԳԱԿԹ փոխադրիչի և ԳԱԿԹ-ԱՏ ֆերմենտի հնարավոր փոխազդեցությունները՝ դոկինգ վերլուծությամբ:

Աշխատանքի գիտագործնական նշանակությունը

ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ դիպեպտիդի համար բացահայտված ուղեղանոթային էֆեկտները կարող են հիմք հանդիսանալ ուղեղի արյան շրջանառությունը շտկող նոր դեղերի ստեղծման համար:

ՊիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի, պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթերի և պիրոգլուտամիլ դիԳԱԿԹ-ի հականոցիցեպտիվ ակտիվությունը, ինչպես նաև ՊԳԲ-ի հետ զուգակցումներում այդ ազդեցության պոտենցումը նոր հեռանկարներ է բացում գծագրելու արդյունավետ հականոցիցեպտիվ ազդեցությամբ օժտված միացություններ՝ ԳԱԿԹ և պիրոգլուտամինաթթու պարունակող կարճ պեպտիդների շարքում:

Ուսումնասիրվող կարճ պեպտիդների և ՊԳԲ-ի զուգակցումների ցուցաբերած ցավազրկող ազդեցությունը, որն ուղեկցվում է կենդանիների ընդհանուր շարժողական ակտիվության բարձրացումով՝ առանց ՊԳԲ-ին բնորոշ սեդատիվ ազդեցության մատնանշում է, որ հետագա նախակլինիկական հետազոտություններից հետո կարելի է ակնկալել ՆՑ-ը կանխող արդյունավետ միջոցի ներդրում՝ ավելի քիչ արտահայտված կողմնակի ազդեցություններով:

Ատենախոսության նախնական փորձաքննություն

Ատենախոսության տվյալները զեկուցվել են «Դեղերի ստեղծման առաջընթացը նախագծումից մինչև սպառում» 2019 և 2022թթ. միջազգային կոնֆերանսներում: Աշխատանքի արդյունքները քննարկվել են «Հայ դեղաբանների ասոցիացիայի» նիստում: Ատենախոսության փորձաքննությունը կայացել է Մ. Հերացու անվան ԵՊԲՀ-ի «Տեսական բժշկություն» փորձագիտական հանձնա-

ժողովի նիստին և հաստատվել է գիտակորոզինացիոն խորհրդով (արձանագրություն թիվ 1, 06. 03. 2024թ.):

Հրապարակումներ

Իրականացված ուսումնասիրության արդյունքները արտացոլված են 7 հրատարակված գիտական աշխատանքներում՝ տեղական և օտարերկրյա գիտաբժշկական պարբերականներում, գիտաժողովների նյութերում:

Ատենախոսության կառուցվածքը և ծավալը

Ատենախոսությունը ներկայացված է հայերենով՝ 150 էջ ծավալով և բաղկացած է հետևյալ հիմնական բաժիններից՝ ներածություն, գրականության ակնարկ, հետազոտության նյութը և մեթոդները, հետազոտության արդյունքները և դրանց քննարկումը, ամփոփում, եզրակացություններ, օգտագործված գրականության ցանկ (240 հղում) և հավելված (8 էջ): Հետազոտության արդյունքները և վերլուծված տվյալները ներկայացված են 62 նկարներով և 6 աղյուսակներով:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

Փորձերն իրականացվել են կիրառելով ուղեղի արյան շրջանառության սուր խանգարման մոդելը՝ մակաձված աջ ընդհանուր քնային զարկերակի կապումով (Zhou Z. et al, 2022), և ՆՑ-ի մոդելը՝ մակաձված նստանյարդի քրոնիկ սեղմումով (ՆՔՍ) (Bennet G. & Xie Y., 1988):

Նշված մոդելներում նյութերի դեղաբանական ակտիվությունը գնահատվել է ոչ ինվազիվ լազեր-դոպլեր հոսքաչափության մեթոդով՝ ըստ ուղեղի տեղային արյան շրջանառության փոփոխությունների (Frerichs K. & Feuerstein G., 1990), «tail flick» թեստով՝ ըստ առնետի պոչի հետձգման ժամանակահատվածի (D'Amour F & Smith D., 1941), «hot plate» թեստով՝ ըստ ցավային վարքի ցուցանիշների (Eddy N. & Leimbach D., 1953), նստանյարդի վնասման ձևաբանական փոփոխությունների դիտարկումով՝ հեմատոքսիլին-էոզին ներկման պայմաններում (Fischer A. et al., 2008): Իրականացվել է դոկինգ վերլուծություն GOLD (Jones G. et al., 1997) և AutoDock Vina (Trott O. & Olson A., 2010) ծրագրերով՝ ուսումնասիրվող պեպտիդների դեղաբանական ազդեցության հնարավոր թիրախների վերհանման նպատակով:

Փորձերում օգտագործվել են թվով 166 սեռահասուն, սպիտակ, անցեղ արու առնետ, 170-260 գրամ քաշով: Առնետների խնամքը և կատարված բոլոր միջամտությունները իրականացվել են ըստ կենդանիների հետ վարվելու միջազգային ստանդարտների (“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”, 8th edn, 2012)՝ համաձայն ԵՊԲՀ էթիկայի հանձնաժողովի հաստատած պահանջներին:

Հետազոտության տվյալների վիճակագրական մշակման համար կիրառվել են IBM SPSS Statistics 27 և Microsoft Excel 2010 ծրագրերը: Ստացված տվյալները ներկայացված են խմբային միջին արժեքի և ստանդարտ սխալի ($M \pm SE$) տեսքով: Անկախ ընտրանքների, ինչպես նաև կապակցված խմբերի համեմատության համար կիրառվել է Ստյուդենտի t-չափանիշի երկկողմանի տարբերակը: Բոլոր դեպքերում տվյալները համարվել են վիճակագրորեն հավաստի առաջին տիպի (α) սխալի 0,05-ից փոքր հավանականության դեպքում:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

1. ԳԱԿԹ պիրզլուտամատային կարճ պեպտիդների դոկինգ վերլուծությունը:

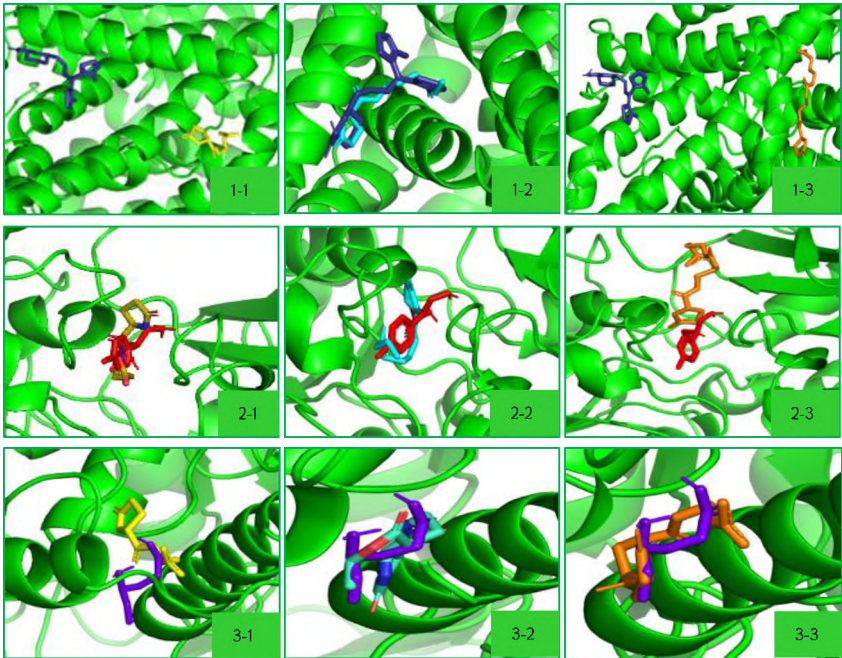
ԳԱԿԹ պիրզլուտամատային կարճ պեպտիդների դեղաբանական ակտիվության նպատակային և ուղղորդված ուսումնասիրության համար իրականացվել է դոկինգ վերլուծություն ԳԱԿԹ-երգիկ սինապսի առանցքային կառույցների՝ ԳԱԿԹ-Բ ընկալիչների (GABA-B), ԳԱԿԹ ամինոտրանսֆերազ ֆերմենտի (GABA-AT) և ԳԱԿԹ փոխադրիչի (GAT1) հետ:

GAT1 պրոտեինային թիրախի հետ ուսումնասիրվող միացությունների փոխազդեցության վերլուծությունը ԳԱԿԹ-ի (GAT1-ի էնդոգեն սուբստրատ) և Տիազաբինի (GAT1-ի արգելակիչ) ակտիվ կենտրոնների համեմատ վկայում է, որ բոլոր միացություններն էլ ունակ են կապվելու նշված թիրախի հետ, սակայն տարբեր ձևով: Այսպես, pGlu-GABA-ի էթիլ եթերը փոխազդում է տիազաբինի նման (նկ. 1-2), իսկ pGlu-GABA-ի (նկ. 1-1) և pGlu-diGABA-ի (նկ. 1-3) փոխազդեցությունները գրանցվել են և՛ տիազաբինի, և՛ ԳԱԿԹ-ի ակտիվ կենտրոնից հեռու տիրույթ-ներում:

GABA-B ընկալիչի հետ pGlu-GABA-ի, pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի և pGlu-diGABA-ի փոխազդեցության ուսումնասիրությունները ԳԱԿԹ-ի (ընկալիչի էնդոգեն լիգանդ) և բակլոֆենի (ընկալիչի ագոնիստ) ակտիվ կենտրոնների համեմատ ցույց տվեցին, որ բոլոր ուսումնասիրվող միացությունները ունակ են ցուցաբերելու բակլոֆենին համանման փոխազդեցություն (նկ. 2-1, 2-2, 2-3):

Դոկինգ վերլուծությունը ցույց տվեց, որ պեպտիդների ենթադրվող ԳԱԿԹ-երգիկ հատկությունները կարող են պայմանավորված լինել նաև դրանց ազդեցությամբ ԳԱԿԹ-ի նյութափոխանակության վրա՝ կապվելով GABA-AT ֆերմենտի հետ: Ընդ որում ֆերմենտի հետ նշված միացությունները ԳԱԿԹ-ի (GABA-AT-ի էնդոգեն սուբստրատ) և վիզաբատրինի (GABA-AT-ի արգելակիչ) համեմատ փոխազդում են ինքնատիպ ձևով: Այսպես, GABA-AT-ի հետ հետազոտվող միացություններից ոչ մեկը չի փոխազդում ԳԱԿԹ-ի տիրույթում, ինչը հավանաբար վկայում է, որ մրցակցությունը ԳԱԿԹ-ի հետ նույն ակտիվ

Կենտրոնի համար բացակայում է: Սակայն բոլոր երեք հետազոտվող կարճ պեպտիդների բացահայտված փոխազդեցությունները GABA-AT-ի հետ մոտենում են վիզաբատրինի ակտիվ կենտրոնին (նկ 3-1, 3-2, 3-3), ինչը մատնանշում է, որ այդ պեպտիդները կարող են ցուցաբերել GABA-AT-ը արգելակող ազդեցություն:



Նկար 1. GAT1 փոխազդեցությունը pGlu-GABA-ի (1-1), pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի (1-2) և pGlu-diGABA-ի (1-3) հետ; GABA-B ընկալիչների փոխազդեցությունը pGlu-GABA-ի (2-1), pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի (2-2) և pGlu-diGABA-ի (2-3) հետ; GABA-AT ֆերմենտի փոխազդեցությունը pGlu-GABA-ի (3-1), pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի (3-2) և pGlu-diGABA-ի (3-3) հետ

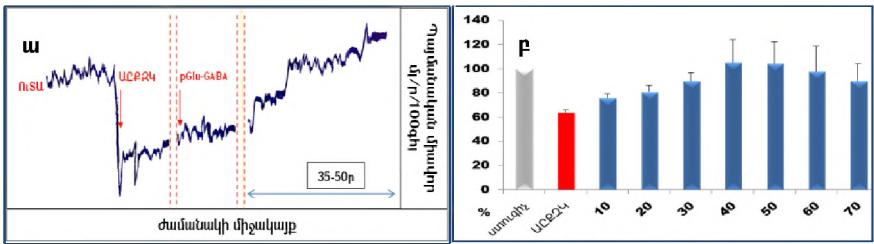
Փաստորեն, pGlu-GABA-ի, pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի և pGlu-diGABA-ի համար արված դոկինգ վերլուծության արդյունքներից կարելի է ենթադրել, որ այս միացությունների ազդեցության համար պոտենցիալ դեղաբանական թիրախներ կարող են հանդիսանալ ինչպես GABA-B ընկալիչները, այնպես էլ GAT1 փոխադրիչը և GABA-AT ֆերմենտը:

Նշվածը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրելու կարճ պեպտիդների ուղեղանոթային ակտիվությունը՝ համանման բակլոֆենին, և հականոցիցեպտիվ ու ՆՅ-ը կանխելու հատկությունները՝ համանման ՊԳԲ-ին:

2.ԳԱԿԹ պիրոզլուտամատային կարճ պեպտիդների ուղեղանոթային ազդեցության ուսումնասիրությունը: Կարճ պեպտիդների ազդեցության

ուսումնասիրությունը ուղեղի արյան շրջանառության (ՈւԱՇ) վրա բացահայտեց, որ ուղեղի արյունամատակարարումը խթանելու հատկություն է ցուցաբերում միայն pGlu-GABA-ը, մինչդեռ pGlu-diGABA-ը և pGlu-GABA-ի էթիլ եթերը զուրկ են նման ազդեցությունից:

Այսպես, աջ ընդհանուր քնային զարկերակի (ԱԸԲԶ) կապումով մակաձված ՈւԱՇ-ն խանգարման պայմաններում, երբ գրանցվում է ցուցանիշի անկում մինչև մեկնարկային արժեքի 63.7%-ը, pGlu-GABA-ի ներորովայնային (ն/ո) ներմուծումը 20մգ/կգ դեղաչափով նպաստում է խափանված արյան շրջանառության վերականգնմանը, որն իր առավելագույն արժեքին է հասնում 35 րոպե հետո, գերազանցելով ոչ միայն իշեմիկ ցուցանիշը 78.6%-ով, այլև մեկնարկային արժեքը 13.8%-ով:



Նկար 2. pGlu-GABA-ի ազդեցությունը ուղեղի տեղային արյունահոսքի (ՈւԱՇ) վրա աջ ընդհանուր քնային զարկերակի կապումով (ԱԸԲԶ) մակաձված իշեմիայի պայմաններում; ա) առնետի ՈւԱՇ դրայերագրությունը; բ) ՈւԱՇ-ի աճը (%) առնետների խմբում

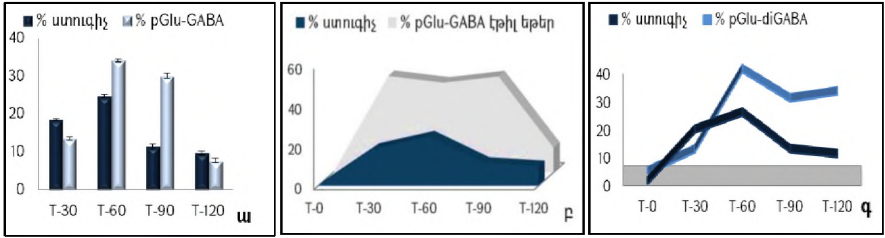
Արյան հոսքը սկսում է նվազել 50-րդ րոպեից, սակայն մինչև իսկ 70-րդ րոպեն ցուցանիշը գերազանցում է ԱԸԲԶ-ի կապումով պայմաններում գրանցված ուղեղի տեղային արյունահոսքի մակարդակը (նկ. 2ա, բ):

3.4ԱԿԹ պիրոզլուտամատային կարճ պեպտիդների, և ՊԳԲ-ի հետ դրանց զուգակցումների հականոցիցեպտիվ ազդեցության ուսումնասիրությունը:

Հետազոտվող կարճ պեպտիդների դեղաբանական ազդեցությունների ուսումնասիրությունը թույլ տվեց բացահայտել հականոցիցեպտիվ ակտիվություն ուսումնասիրվող միացությունների մոտ՝ թեև տարբեր արտահայտվածության: «Tail-flick» թեստում, որտեղ միացությունների հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը գնահատվում է կենդանիների պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածի (ՊԼԸԺ) փոփոխություններով, կարճ պեպտիդների ներմուծումը (20 մգ/կգ) 30, 60, 90 և 120 րոպե հետո թույլ տվեց արձանագրելու հետևյալ արդյունքները:

pGlu-GABA-ի ազդեցությամբ (20 մգ/կգ, ն/ո) ՊԼԸԺ-ը աճել է, առավելագույն արժեքը գրանցելով դիտարկման 60-րդ րոպեին՝ գերազանցելով ոչ միայն ելակետային ցուցանիշը (34%-ով), այլև ստուգիչ խմբում գրանցված համանման

ցուցանիշը (20%-ով): Դիպեպտիդի հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը պահպանվել է ընդհուպ մինչև 90-րդ րոպեն (նկ. 3ա): pGlu-GABA-ի էթիլ էթերի ազդեցությամբ (20 մգ/կգ, ն/ո) գրանցվել է հականոցիցեպտիվ ազդեցության ավելի արագ զարգացում, ինչի մասին է վկայում այն փաստը, որ դիտարկման արդեն իսկ 30-րդ րոպեին ՊԸԼԺ-ը գերազանցել է ելակետային արժեքը մոտ 50%-ով, ինչը պահպանվել է մինչև դիտարկման 90-րդ րոպեն: Հաջորդիվ նոցիցեպցիայի շեմը թեև սկսել է նվազել, սակայն մինչև իսկ դիտարկման 120-րդ րոպեն գերազանցել է ելակետային արժեքը (նկ. 3բ): pGlu-diGABA-ի (20 մգ/կգ, ն/ո) ներարկումը ուղեկցվել է կենդանիների ՊԸԼԺ-ի մեծացմամբ, որն իր առավելագույն արժեքին է հասել դիտարկման 60-րդ րոպեին՝ գերազանցելով ելակետային ցուցանիշը 37%-ով: Արդեն 90-րդ և 120-րդ րոպեների գրանցումներում թեև նկատվել է էֆեկտի նվազման միտում, սակայն հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը պահպանվել է՝ ընդհուպ մինչև դիտարկման ավարտը: Այս միացության ազդեցությամբ հականոցիցեպտիվ ակտիվության աճ է նկատվել նաև ստուգիչ խմբի համեմատ 60, 90, նույնիսկ 120-րդ րոպեին, համապատասխանաբար՝ 17%, 21% և 25%-ով: Ընդ որում, ուշագրավ է, որ ցավազրկող ազդեցության տևողությամբ pGlu-diGABA-ը գերազանցել է մյուս կարճ պեպտիդներին (նկ. 3գ):

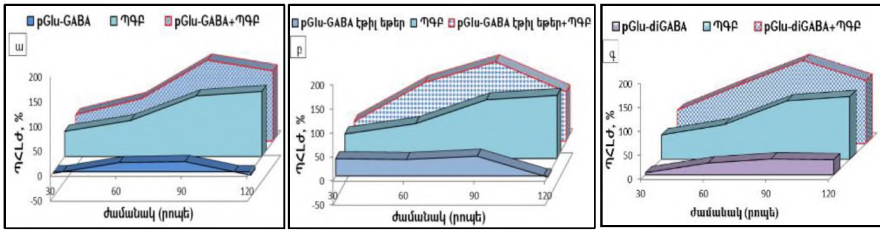


Նկար 3. pGlu-GABA-ի (ա), pGlu-GABA-ի էթիլ էթերի (բ) և pGlu-diGABA-ի (գ) ազդեցությունը առնետի պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածի վրա (%), «tail flick» թեստում

Կարճ պեպտիդների հականոցիցեպտիվ ազդեցության արդյունքները համեմատվել են ՆՅ-ի բուժման համար ընտրության առաջին գծի միջոց ՊԳԲ-ի հետ, ինչպես նաև դիտարկվել է կարճ պեպտիդների և ՊԳԲ-ի զուգակցումների հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը, հիմք ընդունելով ժամանակակից դեղաբանության մեջ ընդունված հայտնի ուղղությունը, համաձայն որի նոր միջոցների ստեղծման արդյունավետ ուղի կարող է հանդիսանալ ապացուցված ազդեցությամբ նյութերի զուգակցումը այն միացությունների հետ, որոնք հնարավորություն կտան կիրառելու հայտնի նյութի ավելի փոքր դեղաչափեր, հետևաբար և մեղմելու դրա կողմնակի ազդեցությունները, իսկ ՊԳԲ-ի դեպքում

հայտնի է, որ ցավազրկում ապահովող դեղաչափերի պայմաններում այն ցուցաբերում է սեղատիվ կողմնակի ազդեցություն:

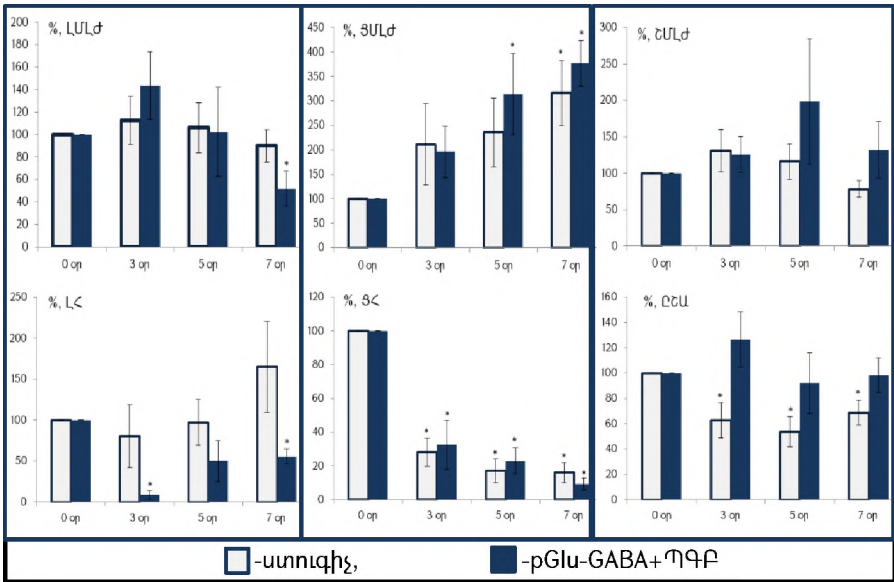
Փորձերում ՊԳԲ-ի ներմուծումը (20մգ/կգ, ն/ո) ուղեկցվել է կենդանիների ՊԼԼԺ-ի մեծացմամբ 30, 60, 90 և 120-րդ րոպեներին համապատասխանաբար 50.85%, 72.40%, 122.05% և 131.14%-ով, ստուգիչ խմբի համեմատ: Ակնհայտ է, որ ուսումնասիրվող պեպտիդները հականոցիցեպտիվ ազդեցությամբ զիջում են ՊԳԲ-ին: Սակայն, բոլոր երեք կարճ պեպտիդների առանձին զուգակցումները ՊԳԲ-ի հետ ուղեկցվել են վերջինիս հականոցիցեպտիվ ազդեցության տարբեր արտահայտվածության պոտենցումով: Այսպես, pGlu-GABA-ի և ՊԳԲ-ի զուգակցված ներմուծումը (20-ական մգ/կգ, ն/ո) ուղեկցվել է ՊԼԼԺ-ի աճով ստուգիչ խմբի համեմատ 163.35%-ով դիտարկման 90-րդ րոպեին, ինչը ակնհայտ գերազանցում է առանձին պրեպարատների ներարկման դեպքում դիտարկման նույն ժամանակահատվածում գրանցված արդյունքները (նկ. 4ա):



Նկար 4. pGlu-GABA-ի (ա), pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի (բ) և pGlu-diGABA-ի (գ) և պրեգաբալինի (ՊԳԲ) զուգակցումների ազդեցությունը առնետի պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածի (ՊԼԼԺ) վրա (%), «tail flick» թեստում

pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի և ՊԳԲ-ի (20-ական մգ/կգ, ն/ո) զուգակցման պայմաններում գրանցվել է առնետի ՊԼԼԺ-ի աճ ավելի վաղ՝ 60-րդ րոպեին, կազմելով ստուգիչ խմբի համեմատ 121.58%, գերազանցելով առանձին պատրաստուկների նշված ցուցանիշների պարզ գումարը (նկ. 4բ): pGlu-diGABA-ի նույնանման զուգակցումը ՊԳԲ-ի հետ (20-ական մգ/կգ, ն/ո) ցուցաբերել է քանակապես ավելի արտահայտված պոտենցում ստուգիչ խմբի համեմատ 60-րդ և 90-րդ րոպեին, որտեղ ՊԼԼԺ-ի աճը համապատասխանաբար 123.22% և 173.91% է, մինչդեռ տրիպեպտիդի դեպքում այս ցուցանիշները նույն դիտարկման ժամանակահատվածներում աճել են համապատասխանաբար 24.86%-ով և 33.23%-ով, իսկ ՊԳԲ-ի դեպքում՝ 72.40%-ով և 122.05%-ով (նկ. 4գ): Այսպիսով ուսումնասիրվող կարճ պեպտիդների և ՊԳԲ զուգակցումները կարող են հեռանկարային հանդիսանալ վերջինիս հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը պոտենցելու առումով, ինչը թույլ կտա նվազեցնել ՊԳԲ-ի դեղաչափերը, և հավանաբար, նաև սպասվող կողմնակի ազդեցությունները:

4.ԳԱԿԹ պիրոգլուտամատային կարճ պեպտիդների և պրեզաբալինի զուգակցումների ցավազրկող ազդեցության ուսումնասիրությունը՝ ներյուպաթիկ ցավի մոդելում: Ուսումնասիրվող պեպտիդների և ՊԳԲ-ի զուգակցված կիրառման ազդեցությունները ուսումնասիրվել են ՆՔՍ մակաձված ՆՑ-ի մոդելում, որտեղ ցավազրկող ազդեցությունը գնահատվել է կենդանիների վարքը բնութագրող այնպիսի փոփոխություններով, ինչպիսիք են թաթերի լիզումների և ցատկերի հաճախականությունը և դրանց մեկնարկի լատենտ ժամանակահատվածը, ինչպես նաև՝ ընդհանուր շարժողական ակտիվությունը «hot plate» թեստում, մինչև մոդելավորումը և ՆՔՍ վիրահատությունից հետո՝ 3-րդ, 5-րդ և 7-րդ օրերին:



Նկար 5. pGlu-GABA+ և ՊԳԲ զուգակցման ազդեցությունը կենդանիների ցավային վարքի ցուցանիշների վրա (%), «hot plate» թեստում; լիզումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (LUL); լիզումների հաճախականություն (L<); ցատկերի մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (SUL); ցատկերի հաճախականություն (S<); շարժումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (ZUL); ընդհանուր շարժողական ակտիվություն (ZUL)

Այսպես, pGlu-GABA-ի և ՊԳԲ-ի (20-ական մգ/կգ, ն/ո) զուգակցված ներմուծման արդյունքում զարգացող փոփոխությունները վկայում են (նկ. 5), որ բուժում ստացած կենդանիների մոտ գրանցվել է թաթերի լիզումների մեկնարկի երկարաձգում և լիզումների հաճախականության նվազում առավելագույնը 3-րդ օրը, ինչպես մեկնարկային, այնպես էլ ստուգիչ խմբի՝ վիրահատված և բուժում չստացած կենդանիների համանման արժեքի համեմատ:

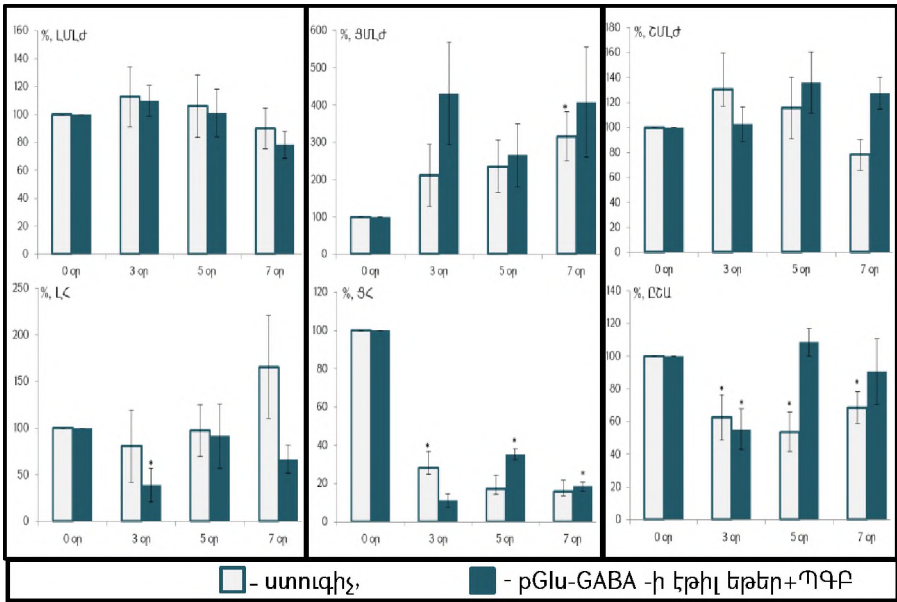
Նույն բուժման պայմաններում ցատկերի մեկնարկի լատենտ ժամանակահատվածը երկարաձգվել է ելակետային ցուցանիշի համեմատ դիտարկման բոլոր օրերին, իսկ 5-րդ և 7-րդ օրերին նույնիսկ գերազանցել է ստուգիչ խմբի արդյունքները: Ցատկերի հաճախականության նվազումը ևս գրանցվել է դիտարկման բոլոր օրերին, սակայն այս ցուցանիշի ավելի արտահայտված նվազումը ստուգիչ խմբի համեմատ գրանցվել է դիտարկման միայն 7-րդ օրը:

Ընդհանուր շարժողական ակտիվությունը և շարժումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատվածի փոփոխությունները դիպեպտիդի և ՊԳԲ-ի (20-ական մգ/կգ) զուգակցված ներարկումից հետո նկատելիորեն տարբերվել են ստուգիչ խմբի արդյունքներից, վկայելով ավելի թույլ ցավային պատասխանի մասին: Այսպես, ստուգիչ խմբի համեմատ 5-րդ և 7-րդ օրերին շարժումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատվածի երկարաձգման առավել արտահայտված ֆոնի վրա գրանցվել է ընդհանուր շարժողական ակտիվության մեծացում գրեթե մինչև ցուցանիշի նախավիրահատական արժեքները, իսկ 3-րդ օրը նույնիսկ գերազանցել է այդ արժեքը:

Ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ pGlu-GABA-ի և ՊԳԲ-ի զուգակցման դեպքում թուլանում են ցավով պայմանավորված կենդանիների վարքի փոփոխությունները՝ չազդեցով դրանց ընդհանուր շարժողական ակտիվության վրա:

pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի և ՊԳԲ-ի (20-ական մգ/կգ, ն/ո) զուգակցված ներարկման արդյունքում (նկ. 6) թեև լիզումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատվածի փոփոխությունները ստուգիչ խմբի համեմատ չեն երկարաձգվել, սակայն լիզումների հաճախականության նվազումը դիտարկման բոլոր օրերին մեկնարկային և ստուգիչ խմբի համանման արժեքների համեմատ վկայում է ցավի նվազման մասին:

Ցատկերի մեկնարկի ուսումնասիրությունը վկայում է, որ դիտարկման բոլոր օրերին գնահատվող ցուցանիշը գերազանցել է մեկնարկային և ստուգիչ խմբի արժեքները: Ընդ որում, ստուգիչ խմբի համեմատ ինչպես ցատկերի մեկնարկի առավելագույն աճը, այնպես էլ ցատկերի հաճախականության առավելագույն նվազումը գրանցվել է դիտարկման 3-րդ օրը: Ընդհանուր շարժողական ակտիվության դիտարկման ժամանակ գրանցվել է արտահայտված աճ ստուգիչ խմբի համեմատ հատկապես 5-րդ և 7-րդ օրերին: Դիտարկման նույն օրերին գրանցվել է նաև շարժումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատվածի երկարաձգում, այն դեպքում, երբ ստուգիչ խմբում այս նույն ցուցանիշը ցուցաբերում էր նվազման միտում: Այսպիսով, pGlu-GABA-ի էթիլ եթերի և ՊԳԲ-ի զուգակցված ներմուծման արդյունքները վկայում են, որ այս զուգակցումը ևս ցավի վարքային փոփոխությունների վրա թողնում է դիպեպտիդի և ՊԳԲ-ի զուգակցմանը համանման ցավազրկող ազդեցություն:

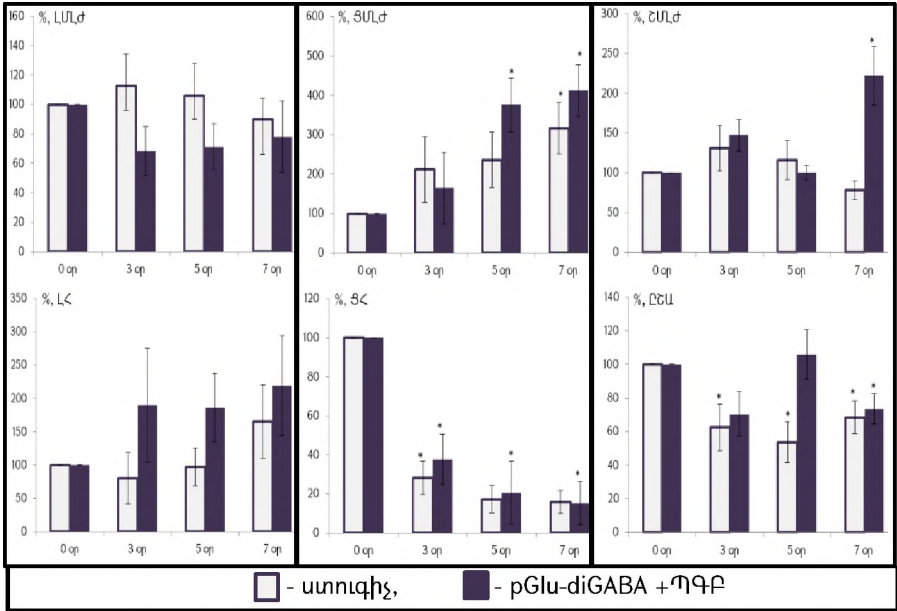


Նկար 6. pGlu-GABA էթիլ եթեր+ՊԳԲ զուգակցման ազդեցությունը կենդանիների ցավային վարքի ցուցանիշների վրա (%), «hot plate» թեստում; լիզոմների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (LUL,ժ); լիզոմների հաճախականություն (LՀ); ցատկերի մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (SUL,ժ); ցատկերի հաճախականություն (SՀ); շարժումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (DL,ժ); ընդհանուր շարժողական ակտիվություն (DLU)։

ՊԳԲ-ի և pGlu-diGABA-ի (20-ական մգ/կգ, ն/ո) զուգակցման պայմաններում (նկ. 7) ընդհանուր շարժողական ակտիվության և շարժումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատվածի փոփոխությունները համադրելով պարզվել է, որ դիտարկումների 7-րդ օրը գրանցվել է շարժումների մեկնարկի առավելագույն երկարաձգումը, իսկ ընդհանուր շարժողական ակտիվության էական աճը արտահայտվել է 5-րդ օրվա գրանցումներում, ստուգիչ խմբի համանման ցուցանիշի համեմատ: Այս զուգակցման ազդեցությունը ցատկերի հաճախականության և դրանց մեկնարկի լատենտ ժամանակահատվածի վրա դիտարկելիս պարզվեց, որ թեև ցատկերի մեկնարկը բուժում ստացած կենդանիների մոտ ստուգիչ խմբի համեմատ երկարաձգվել էր դիտարկման 5-րդ և 7-րդ օրերին, ցատկերի հաճախականությունը կենդանիների այս երկու խմբերի միջև գրեթե չէր տարբերվում: Տրիպտափոփի և ՊԳԲ-ի ազդեցությամբ գրանցված ընդհանուր շարժողական ակտիվության մեծացման պայմաններում վերջիններիս ազդեցությունը լիզոմների թե՛ մեկնարկի լատենտ

ժամանակահատվածի, թե՛ լիզոմների հաճախականությունների վրա գրանցել չհաջողվեց:

Այսինքն, pGlu-diGABA-ի և ՊԳԲ-ի զուգակցման ցավազրկող արդեցությունը ՆՑ-ի մոդելում բնութագրվում է զուգակցման ցատկերի և ընդհանուր շարժողական ակտիվության վրա թողած ազդեցությամբ, հատկապես կենդանիների ավելի երկարատև բուժման պայմաններում:



Նկար 7. pGlu-diGABA էթիլ եթեր+ՊԳԲ զուգակցման ազդեցությունը կենդանիների ցավալին վարքի ցուցանիշների վրա (%), «hot plate» թեստում; լիզոմների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (LUL); լիզոմների հաճախականություն (LC); ցատկերի մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (SUL); ցատկերի հաճախականություն (SC); շարժումների մեկնարկի լատենտ ժամանակահատված (CUL); ընդհանուր շարժողական ակտիվություն (DCU)

Այսպիսով, ստացված արդյունքները հաստատեցին ԳԱԿԹ պիրոզլուտամատային կարճ պեպտիդների և ՊԳԲ-ի զուգակցումների նպատակահարմարությունը, քանի որ զուգակցումները ցուցաբերում են ոչ միայն հականոցիցեպտիվ ակտիվություն, այլ նաև ցավազրկող ազդեցություն ՆՑ-ի մոդելում, առանց ՊԳԲ-ին բնորոշ սեղատիվ ազդեցության դրսևորումների:

5.ԳԱԿԹ պիրոզլուտամատային կարճ պեպտիդների ազդեցությունը նստանյարդի ձևաբանական փոփոխությունների վրա՝ ներյուպաթիկ ցավի մոդելավորման պայմաններում: ԳԱԿԹ պիրոզլուտամատային կարճ պեպտիդների և ՊԳԲ-ի զուգակցումների ցուցաբերած հականոցիցեպտիվ ակտիվությունը և ՆՑ-ի մոդելում դրսևորած ցավազրկող ազդեցությունը թույլ տվեցին

ենթադրելու, որ ուսումնասիրվող զուգակցումների ազդեցությունը ՆՑ-ը կանխելու մեջ կարող է պայմանավորված լինել ոչ միայն դրանց հականոցիցեպտիվ և ցավազրկող, այլ նաև նյարդապաշտպան ազդեցությամբ, քանի որ ըստ գրականության մեջ հանդիպող տվյալների նմանատիպ ազդեցությունը բնորոշ է նաև ՊԳԲ-ին:

Այս ամենը հիմք հանդիսացավ դիտարկելու նստանյարդի ձևաբանական փոփոխությունները ՆՑ-ի մոդելում, հետվիրահատական 5-րդ և 7-րդ օրերին: Կարճ պեպտիդների նյարդապաշտպան ազդեցությունը բացահայտելու նպատակով պեպտիդներից ընտրվել է pGlu-GABA-ի էթիլ եթերը, որի մոտ ուսումնասիրություններում բացահայտվել էր ազդեցությունների արտահայտման ավելի վաղ մեկնարկը:

Հսկիչ խմբի և pGlu-GABA-ի էթիլ եթերով բուժում ստացած նստանյարդի ձևաբանական փոփոխությունների ուսումնասիրման արդյունքում պարզվեց, որ երկու խմբերում էլ նյարդաթելերում զարգանում է բորբոքային ռեակցիա՝ ի պատասխան ընթացող մեռուկային և դիստրոֆիկ-նեկրոբիոտիկ տարբեր աստիճանի փոփոխությունների, սակայն դեղային բուժման պայմաններում դրանք ունենին առավել թույլ արտահայտվածություն, և գերակշռում են բորբոքման պրոլիֆերատիվ փուլի ռեակցիաները՝ լիմֆոցիտների, հիստիոցիտ-մակրոֆագերի, հսկա բազմակորիզ բջիջների առկայությամբ, մինչդեռ հսկիչ խմբում արտահայտվում են բորբոքման էքսուդատիվ փուլի փոփոխությունները: Դեղային բուժում ստացած խմբերում նկարագրվել է նաև սատելիտոզ և նեոանգիոգենեզ, ինչը կարելի է դիտարկել որպես զարգացող ռեզեներատիվ գործընթացների վկայություն:

* * *

Այսպիսով, ԳԱԿԹ և պիրոզլուտամինաթթու պարունակող կարճ պեպտիդների դեղաբանական հատկությունների ուսումնասիրությունը հաստատեց դրանց պոտենցիալ հնարավորությունների վերաբերյալ դիրքորոշումը, վկայելով, որ վերջիններս կարող են շտկել խափանված ՈւԱՇ-ը, ցուցաբերում են հականոցիցեպտիվ ազդեցություն, ունակ են կարգավորելու ՆՑ-ը՝ պրեգաբալինի հետ զուգակցված կիրառման պայմաններում, առանց վերջինիս բնորոշ սեղատիվ ազդեցության դրսևորումների:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Բացահայտվել է պիրոգլյուտամիլԳԱԿԹ-ի (20 մգ/կգ, ն/ո) ուղեղանոթային ակտիվությունը, ինչի մասին է վկայում աջ ընդհանուր քնային զարկերակի կապումով խափանված ուղեղի արյունահոսքը 78.6%-ով վերականգնելու ունակությունը՝ գրանցված լազեր-դոպլերային հոսքաչափությամբ:
2. Հաստատվել է պիրոգլյուտամիլԳԱԿԹ-ի, պիրոգլյուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթերի և պիրոգլյուտամիլ դիԳԱԿԹ-ի (20-ական մգ/կգ, ն/ո) հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը, որը արտահայտվում է կարճ պեպտիդների ունակությամբ երկարաձգելու առնետների պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածը, «tail-flick» թեստում:
3. Ապացուցվել է, որ ուսումնասիրվող կարճ պեպտիդների համակցումը ՊԳԲ-ի հետ ուղեկցվում է վերջինիս հականոցիցեպտիվ ազդեցության պոտենցումով:
4. Պարզաբանվել է, որ պիրոգլյուտամիլԳԱԿԹ-ի, պիրոգլյուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթերի և պիրոգլյուտամիլ դիԳԱԿԹ-ի զուգակցումը պրեգաբալինի հետ (20-ական մգ/կգ, ն/ո) ուղեկցվում է նեյրոպաթիկ ցավի մեղմումով, ինչը արտահայտվում է «hot plate» թեստում ցավային վարքի փոփոխություններով՝ կենդանիների ընդհանուր շարժողական ակտիվության խթանմանը զուգընթաց:
5. ՊրոգլյուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթերի նստանյարդի քրոնիկ սեղմումով մակաձված ձևաբանական տեղաշարժերը բարելավելու հատկությունը մատնանշում է, որ ուսումնասիրվող պեպտիդների ՆՑ-ը մեղմելու ունակությունը կարող է պայմանավորված լինել ոչ միայն վերջիններիս հականոցիցեպտիվ հատկությամբ, այլ նաև նյարդապաշտպան ազդեցությամբ:
6. ԳԱԿԹ-պիրոգլյուտամինաթթու պարունակող կարճ պեպտիդների և դրանց պոտենցիալ ազդեցության թիրախների *in silico* վերլուծությունը թույլ է տալիս ենթադրելու վերջիններիս հնարավոր փոխազդեցության մասին ԳԱԿԹ ընկալիչների, ԳԱԿԹ ամինոտրանսֆերազ ֆերմենտի, ինչպես նաև՝ ԳԱԿԹ փոխադրիչի հետ:

ՀՐԱՏԱՐԱԿՎԱԾ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ՑԱՆԿ

1. Ադամյան Ն, Բալասանյան Մ., Սեկոյան Է., Գրիգորյան Ա., Եղոյան Կ. ԳԱԿԹ-ի և պիրոգլուտամինաթթվի ածանցյալների հականոցիցեպտիկ ակտիվության ուսումնասիրությունը//*Հայաստանի բժշկագիտություն*, Թ. 3, 2019, էջ 62-71:
2. Գրիգորյան Ա., Բալասանյան Մ., Ժամհարյան Ա., Թոփչյան Հ., Ադամյան Ն., Քարամյան Ս. S(+)-2- ամինո-3-(բենզիլամինո)պրոպիոնաթթվի դեղաբանական ակտիվության ուսումնասիրությունը// *Բժշկություն գիտություն և կրթություն*, Թ. 27, 2019, էջ 3-7:
3. Adamyan N., Egoyan K., Karamyan S., Amroyan E., Sekoyan E. Pharmacological pain management by GABA and pyroglutamic acid derivatives// *Medicine Science and Education*, Vol. 28, 2019, p. 96.
4. Ադամյան Ն. Նեյրոպաթիկ ցավի կանխումը պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ դիպեպտիդով//*Հայաստանի բժշկագիտություն*, Թ. 2, 2022, էջ 109-117:
5. Adamyan N., Topchyan H., Poghosyan V. *et al.* Synthesis and Antinociceptive Activity of GABA and Pyroglutamic Acid Short Peptides//*Pharm Chem J*, 2022, Vol. 56(3), pp. 339–344, <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02640-z>.
6. Adamyan N., Shamilyan Q., Zhamharyan A., Topchyan H., Balasanyan M.. Investigation of cerebrovascular activity of new GABA-derived short peptides//*The New Armenian Medical Journal*, 2022, Vol. 16(4), pp.89-95, <https://doi.org/10.56936/18290825-2022.16.4-89>.
7. Adamyan N., Bekyan R., Poghosyan V. Neuropathic pain elimination by GABA-Pyroglutamic acid short peptides// *Medicine Science and Education*, Vol. 35, 2023, p. 73.

СИНТЕЗИРОВАННЫЕ НОВЫЕ КОРОТКИЕ ПЕПТИДЫ ГАМК И ПИРОГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В УПРАВЛЕНИИ НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ БОЛИ

Резюме

Создание новых средств для управления нейропатической болью остается актуальной проблемой современной медицины, поскольку, несмотря на широкий арсенал лекарственных препаратов, используемых в этой области, нейропатическая боль по своей распространённости имеет тенденцию к росту и превосходит диабет, сердечнососудистые и онкологические заболевания вместе взятые.

В экспериментальных условиях изучена фармакологическая активность новых синтезированных коротких пептидов ГАМК и пироглутаминовой кислоты – пироглутамилГАМК-а, этилового эфира пироглутамилГАМК-а и пироглутамил диГАМК-а, на основе *in silico* выявленных потенциальных мишеней их действия. Докинг анализ протеин-лиганд возможных взаимодействий между исследуемыми короткими пептидами и ключевыми звеньями системы ГАМК - ГАМК-В рецептором, ГАТ-1 транспортным белком и ГАМК-АТ ферментом, предопределил исследование цереброваскулярных эффектов и анальгетической активности исследуемых соединений.

В модели острого нарушения мозгового кровотока, вызванного перевязкой правой общей сонной артерии (ПОСА), с применением метода лазер-доплеровской флоуметрии выявлено, что среди исследованных пептидов цереброваскулярной активностью обладает пироглутамилГАМК. После окклюзии ПОСА, когда наблюдалось снижение локального мозгового кровотока на 36.3%, внутрибрюшинное (в/б) введение указанного пептида в дозе 20 мг/кг сопровождалось увеличением нарушенного локального коркового кровотока по сравнению с окклюзией на 78.6%, восстанавливая исходный уровень показателя.

В тесте оценки ноцицепции "tail flick" выявлена антиноцицептивная активность как отдельных коротких пептидов, так и их сочетаний с прегабалином (ПГБ) - препаратом первой линии лечения нейропатической боли. Мониторинг латентного времени отдергивания хвоста в указанном тесте показал, что введение пироглутамилГАМК-а в дозе 20 мг/кг (в/б) сопровождается увеличением исследуемого показателя, достигнув максимального значения на 60-й минуте эксперимента, превышая показатель контрольной группы на 20%. Антиноцицептивный эффект этилового эфира пироглутамилГАМК-а развивается несколько раньше (на 30-й минуте наблюдения), оставаясь без существенных

сдвигов вплоть до 90-й минуты эксперимента. При введении пироглутамил диГАМК-а было зарегистрировано увеличение исследуемого показателя на 60-й, 90-й и 120-й минутах наблюдения по сравнению с контрольной группой на 17%, 21% и 25% соответственно.

Показано, что сочетание каждого из исследуемых коротких пептидов с ПГБ сопровождается не просто суммацией, но и потенцированием антиноцицептивного действия последнего. Установленный факт открывает перспективы для возможного снижения дозы ПГБ, а вместе с этим и уменьшения ожидаемых побочных эффектов препарата, таких как седация.

В модели нейропатической боли, вызванной хроническим сдавливанием седалищного нерва, выявлено анальгетическое действие сочетаний ПГБ и коротких пептидов, в тесте "hot plate". Обезболивающий эффект препаратов оценивался до моделирования и через 3, 5 и 7 дней после оперативного вмешательства по ряду поведенческих показателей, таких как частота и латентное время облизываний лап и прыжков животных, а также их общая двигательная активность и латентное время начала движений. Мониторинг указанных индикаторов болевого поведения животных свидетельствует о том, что сочетанное введение исследуемых коротких пептидов с ПГБ сопровождается выраженным развитием анальгетического эффекта. Примечательно, что подавление нейропатической боли под влиянием изучаемых сочетаний сопровождается повышением общей двигательной активности животных, что указывает на возможное предотвращение седации, характерной для ПГБ.

Морфологическими исследованиями в модели нейропатической боли, вызванной хроническим сдавливанием седалищного нерва, на примере этилового эфира пироглутамилГАМК-а, отличающегося фармакокинетической особенностью быстрого развития антиноцицептивного эффекта, показано, что в устранении нейропатической боли исследуемыми короткими пептидами помимо антиноцицептивного и анальгетического эффектов, задействована также и их нейропротекторная способность.

Таким образом, установленная антиноцицептивная, анальгетическая, нейропротекторная и цереброваскулярная активность исследованных пептидов открывает перспективы разработки потенциальных корректоров нарушений мозгового кровоснабжения, а также новых средств управления нейропатической болью на основе коротких пептидов ГАМК и пироглутаминовой кислоты.

NEUROPATHIC PAIN MANAGEMENT BY NEWLY SYNTHESIZED GABA AND PYROGLUTAMIC ACID SHORT PEPTIDES

Summary

The development of new drugs for the treatment of neuropathic pain remains an urgent need of medicine, as, despite the wide range of drugs used in this field, neuropathic pain tends to increase in prevalence and exceeds diabetes mellitus, cardiovascular and oncological diseases combined.

The pharmacological activity of newly synthesized short peptides pyroglutamylGABA, pyroglutamylGABA ethyl ester, and pyroglutamyl diGABA was investigated based on *in silico* identified potential targets of their action. The docking analysis of protein-ligand possible interactions between the studied short peptides and key links of the GABA system – GABA-B receptors, GAT-1 transport protein, and GABA-AT enzyme, predefined the investigation of cerebrovascular effects and analgesic activity of the studied compounds.

In a model of impaired cerebral blood flow caused by right common carotid artery occlusion (rCCAO), the cerebrovascular activity of pyroglutamylGABA was revealed in rats among the studied peptides. Thus, after rCCAO, when a decrease in local cerebral blood flow was manifested by 36.3%, intraperitoneal (i/p) administration of the mentioned peptide at a dose of 20 mg/kg was accompanied by an increase in impaired local cortical blood flow by 78.6% compared with the occlusion value, restoring the initial level of the indicator.

In the "tail flick" test, the antinociceptive activity of individual short peptides, as well as their combinations with pregabalin (first-line drug for the treatment of neuropathic pain), was revealed. Monitoring of tail flick latency in the mentioned test demonstrated that the administration of pyroglutamylGABA at a dose of 20 mg/kg (i/p) was accompanied by an increase in this indicator and reached its maximum value at the 60th minute of the experiment, exceeding the control group data by about 20%. The antinociceptive effect of pyroglutamylGABA ethyl ester was developed earlier (at the 30th minute of observation), remaining without significant changes until the 90th minute of the experiment. After the pyroglutamyl diGABA administration, an increase in the studied indicator was

recorded at the 60th, 90th and 120th minutes of observation by about 17%, 21% and 25%, respectively, compared with the control group.

It is demonstrated that the combination of each of the studied short peptides with pregabalin is accompanied not only by summation, but also by potentiation of the antinociceptive effect of pregabalin. This feature opens up the possibility for a reduction in the prescribed dose of pregabalin and, at the same time, for lowering its expected side effects such as sedation.

In the model of neuropathic pain caused by chronic constriction injury (CCI) of the sciatic nerve, analgesic effect of the combination of individual short peptides with pregabalin was revealed in the "hot plate" test. The analgesic effect of the drugs was assessed before modeling and on the 3rd, 5th and 7th days after surgery, by pain behavior indicators, such as the frequency and latency of animal paw lickings, frequency and latency of animal jumpings, as well as their locomotor activity and latency of movements. Monitoring of mentioned indicators showed that the combined administration of the studied short peptides with pregabalin developed a pronounced analgesic effect. It is noteworthy that the suppression of neuropathic pain by studied combinations is accompanied by increased locomotor activity in animals, which indicates the possible prevention of the sedative side effect typical for pregabalin.

Morphological studies have shown the possible neuroprotective properties of short peptides, which was demonstrated by the ability of pGABA ethyl ester (a peptide with the pharmacokinetic feature of a more rapid development of the antinociceptive effect) to mitigate the structural changes in the sciatic nerve caused by chronic constriction injury. The obtained data indicates that the neuroprotective ability of the studied short peptides could also be involved in the elimination of neuropathic pain.

Thus, the antinociceptive, analgesic, neuroprotective, and cerebrovascular activity of the studied peptides was established, which opens up new prospects for the development of potential correctors of impaired cerebral blood supply, as well as new agents for neuropathic pain management among short peptides of GABA and pyroglutamic acid.

