



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## РОЛЬ ГАЛАРМИНА В ИЗМЕНЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ТИРЕОТРОПНОГО И ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ У КРЫС ПРИ ГЕМИСЕКЦИИ СПИННОГО МОЗГА

Т.С. ХАЧАТРЯН

*Институт прикладных проблем физики НАН РА  
pharmatica@mail.ru*

Исследовались концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови у крыс при латеральной гемисекции спинного мозга до и после воздействия сверхмалых доз гипоталамического нейропептида галармина. Исследования показали, что в условиях гемисекции спинного мозга у крыс наблюдалось резкое увеличение уровня концентрации тиреотропного гормона гипофиза и резкое снижение такового в крови. После воздействия сверхмалых доз галармина в крови у крыс наблюдалось резкое снижение уровня тиреотропного гормона гипофиза и повышение уровня тиреоидных гормонов в крови, с достижением такового у интактных животных.

*Тиреотропный гормон гипофиза – тироксин – трийодтиронин – галармин – гемисекция спинного мозга*

Սույն ուսումնասիրության նպատակն էր՝ հետազոտել հիպոֆիզի թիրեոտրոպ հորմոնի և վահանագեղձի հորմոնների կոնցենտրացիայի փոփոխությունը առնետների արյան մեջ, ողնուղեղի լատերալ կիսահատման պայմաններում, հիպոթալամիկ նեյրոպեպտիդ գալարմինի գերցածր չափաբաժինների կիրառումից առաջ և հետո: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ առնետների ողնուղեղի կիսահատման պայմաններում նկատվել է արյան մեջ հիպոֆիզի թիրեոտրոպ հորմոնի կոնցենտրացիայի կտրուկ աճ և վահանագեղձի հորմոնների կոնցենտրացիայի կտրուկ նվազում: Գալարմինի գերցածր չափաբաժինների ազդեցության տակ կենդանիների արյան մեջ տեղի էր ունենում հիպոֆիզի թիրեոտրոպ հորմոնի կոնցենտրացիայի կտրուկ նվազում և վահանագեղձի հորմոնների մակարդակի կտրուկ աճ, որը բնորոշ է նորմալ կենդանիներին:

*Հիպոֆիզի թիրեոտրոպ հորմոն – թիրոքսին – տրիյոդթիրոնին – գալարմին – ողնուղեղի կիսահատում*

The aim of this study was to investigate the changes of thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones concentrations in blood of rats with lateral hemisection of spinal cord before and after injection of ultra-low doses of hypothalamic neuropeptide galarmin. Studies showed a sharp increase of thyroid-stimulating hormone level in rats with hemisection of spinal cord and an appreciable drop in the level of thyroid hormones in blood and a sharp drop in the level of thyroid hormones in the blood. The action of ultra-low doses of galarmin decreased the concentration of thyroid-stimulating hormone and simultaneously increased the level of thyroid hormones which is typical for the intact animals.

*Thyroid-stimulating hormone – thyroxin – triiodothyronine – galarmin – hemisection*

Известно, что поражения спинного мозга (СМ) являются самой тяжёлой травмой, нередко сопровождающейся шоковым состоянием, требующим помещения больного в отделение реанимации, противошоковую палату или палату интенсивной терапии. По этиологии поражения СМ делятся на следующие группы: 1) травматические поражения (частичный разрыв СМ, кровоизлияние в него – гематомия, полный поперечный перерыв); 2) заболевания после перенесенных воспалительных процессов (миелит, арахномиелит и др.); 3) состояние после оперативных вмешательств (удаление опухоли и межпозвоночных дисков) [8]. Нейродегенеративные соматические заболевания СМ, а также его травматическая болезнь, возникающая вследствие повреждения позвоночника, относятся к важнейшим нерешенным проблемам современной медицины. Эти заболевания расцениваются как одни из самых прогностически неблагоприятных ввиду тяжести последствий, недостаточной эффективности существующих методов лечения и отсутствия этиотропных лекарственных средств [14]. Для лечения как дегенеративных, так и травматической болезни СМ различными авторами было исследовано действие ряда препаратов самых различных фармакологических групп: блокаторов альфа-адренергических рецепторов, стимуляторов и блокаторов бета-адренорецепторов, барбитуратов, антифибринолитических средств, антикоагулянтов, низкомолекулярных декстранов, опиатных антагонистов, тиреотропного гормона, иммунодепрессантов, липидных антиоксидантов, эуфиллина, диметилсульфоксида, нестероидных противовоспалительных препаратов, мышечных релаксантов. Результаты экспериментов, не всегда обнадеживающие, все же позволяют говорить о том, что терапевтический нигилизм в отношении заболеваний СМ не оправдан [7, 11, 13].

В настоящее время одним из наиболее распространённых спинальных повреждений является синдром половинного поражения СМ (латеральная гемисекция СМ, синдром Броун-Секара (ЛГМС)), возникающий при его ранениях, экстрадуральных опухолях и ишемии, вследствие нарушения кровообращения по передней бороздчатой артерии (ветвь передней спинномозговой артерии). Эта артерия снабжает кровью почти всю боковую половину поперечника СМ, за исключением задних канатиков, поэтому в данном случае при ишемии синдром Броун-Секара будет неполный, так как будут отсутствовать проводниковые расстройства эпикритической чувствительности на стороне поражения [12].

Для познания центральных нейрогуморальных механизмов регуляции всей иммунной системы большое значение имеют новые иммуномодуляторы мозга – пролином богатые пептиды (ПБП), продуцируемые нейросекреторными клетками гипоталамуса. Регуляторные пептиды и сопряжённые с их функцией ферменты следует рассматривать как сложную адаптивную систему организма, организующую реализацию приспособительных реакций на всех уровнях его интеграции. К подобной группе жизненно важных пептидов с невыясненным до конца молекулярным механизмом действия относятся и богатые пролином пептиды, выделенные А. Галояном и сотр. из нейросекреторных ядер гипоталамуса (N. Paraventricularis и N. supraoticus) крупного рогатого скота. Впоследствии была выяснена первичная структура этих пептидов, что позволило синтезировать их [9]. Из выделенных пептидов наиболее изучен галармин (ГАЛ), состоящий из 15 аминокислот со следующей первичной структурой: Ala-Gly-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro-Gly-Val-Tyr [10]. ГАЛ обладает свойствами цитокина и является регулятором гуморального и клеточного иммунитета [2].

Вместе с тем в проводимых в настоящее время исследованиях по вышеперечисленной проблеме продолжают отсутствовать сведения относительно изолированного применения сверхмалых доз (СМД)  $10^{-13}$ – $10^{-17}$  М ГАЛ в изучении процес-

сов изменения концентрации тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ), свободного трийодтиронина (Т3), свободного тироксина (Т4) в сыворотке крови у крыс при ЛГМС.

**Материал и методика.** Исследования проведены на 80 двенадцатимесечных крысах-самцах линии Вистар в условиях полухронического эксперимента, разделенных на 6 подопытных групп:

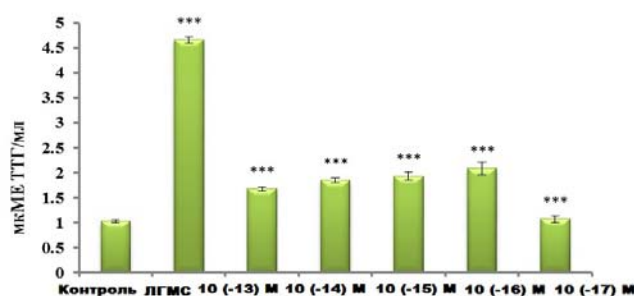
1. контрольные животные – 30 экз.;
2. животные с ЛГМС, получавшие в течение 14 послеоперационных дней СМД  $10^{-13}$  М ГАЛ – 10 экз.;
3. животные, получавшие СМД  $10^{-14}$  М ГАЛ – 10 экз.;
4. животные, получавшие СМД  $10^{-15}$  М ГАЛ – 10 экз.;
5. животные, получавшие СМД  $10^{-16}$  М ГАЛ – 10 экз.;
6. животные, получавшие СМД  $10^{-17}$  М ГАЛ – 10 экз..

В данных сериях экспериментальных исследований использовалась хирургическая модель ЛГМС. Животные оперировались в стерильных условиях под внутривенным нембутало-хлоралозовым наркозом. Под брюхо наркотизированного животного подкладывался небольшой валик и передние лапы подтягивались к задним. В грудной части спины выстригали и выбривали шерсть, затем смазывали кожу йодом. Операционное поле обкладывалось стерильными салфетками, после чего производили разрез по линии остистых отростков на уровне грудного отдела позвоночника. Мышцы по сторонам отростков отслаивались в стороны до самых дужек позвонков. Маленькими костными щипцами резецировались остистые отростки двух позвонков, специальными крючками раздвигались дужки позвонков. С помощью утонченного катарактального скальпеля перерезали СМ и его оболочки по окружности на уровне Т8–Т9. После этого полностью перерезки проверяли осторожным приподнятием концов мозга и обследованием их при орошении операционного поля слабой струей физиологического раствора, а также натяжением хвоста животного. Затем приостанавливали кровотечение с помощью местного кровоостанавливающего средства с последующим тщательным орошением физиологическим раствором. После этого узловыми швами сшивали мышцы и кожу.

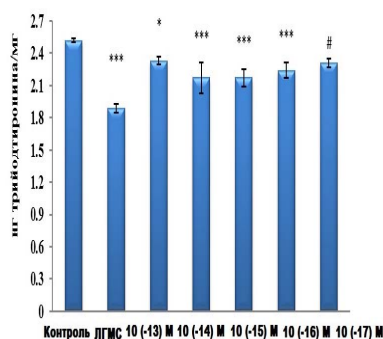
СМД ГАЛ были получены многостаканным методом С. Ганемана с соблюдением технологических правил, изложенных в руководствах по гомеопатии [4, 6]. После ЛГМС и окончания инъекций в местоповреждения СМД  $10^{-13}$ – $10^{-17}$  М ГАЛ в течение 14 послеоперационных дней у исследуемых животных была проведена декапитация и осуществлен сбор крови. В сыворотке с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА) определялась концентрация ТТГ, свободного Т3 и свободного Т4 посредством иммуноферментного анализатора RISER 8793 с набором “Elisa деоксиниваленола (W81115)”.

Достоверность различий оценивали на основе параметрического однофакторного дисперсионного анализа (one-way Anova) и постдисперсионного анализа Холм – Сидака с помощью пакета программ Sigma Plot 12 for Windows.

**Результаты и обсуждение.** В представленной серии исследований нами было изучено дозозависимое влияние СМД  $10^{-13}$  М– $10^{-17}$  М ГАЛ на изменение уровня концентрации ТТГ в сыворотке крови двенадцатимесечных белых крыс-самцов при ЛГМС (рис. 1). Установлено, что у спинальных крыс наблюдается резкое повышение уровня концентрации ТТГ в сыворотке крови на 477, 6 % по сравнению с контрольными животными. После воздействия СМД  $10^{-13}$  ГАЛ наблюдалось резкое снижение уровня концентрации ТТГ в сыворотке крови у крыс с ЛГМС, составляющее 157, 1 %, после воздействия СМД  $10^{-14}$  ГАЛ – 167, 2 %.

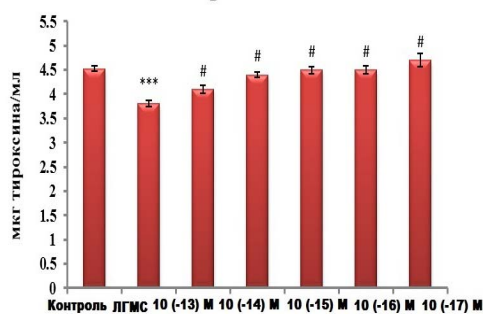


**Рис. 1.** Дозозависимое влияние галармина на содержание тиреотропного гормона в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при латеральной гемисекции спинного мозга. Постдисперсионный анализ Холм-Сидака при сравнении всех групп:  $F=84.25$ ,  $p < 0.001$ .



**Рис. 2.** Дозозависимое влияние галармина на содержание свободного трийодтиронина в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при латеральной гемисекции спинного мозга. Постдисперсионный анализ Холм-Сидака при сравнении всех групп:  $F=19.8$ ,  $p < 0.001$ .

### Тироксин



**Рис. 3.** Дозозависимое влияние галармина на концентрацию свободного тироксина в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при латеральной гемисекции спинного мозга. Постдисперсионный анализ Холм-Сидака при сравнении всех групп:  $F=9.54$ ,  $p < 0.001$ .

После применения СМД ГАЛ  $10^{-15}$  снижение уровня концентрации ТТГ в сыворотке крови у спинальных крыс составило 173, 7 %, а в случае СМД  $10^{-16}$  М – 191, 5 %. При исследовании воздействия СМД ГАЛ  $10^{-17}$  у крыс с ЛГМС получено снижение уровня концентрации ТТГ на 110, 3 %.

Подводя итоги данной серии исследований, можно сделать вывод о том, что все использованные СМД ГАЛ проявляют протекторное действие в отношении из-

менения референсных диапазонов концентрации ТТГ в сыворотке крови у крыс с ЛГМС, в особенности СМД ХЭД  $10^{-17}$  М.

В следующей серии исследований нами было изучено дозозависимое влияние ГАЛ на концентрацию свободного Т3 в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при ЛГМС (рис. 2). В проведенных исследованиях наблюдалось стойкое плавное снижение уровня концентрации свободного Т3 в сыворотке крови у спинальных крыс на 13,7 % по сравнению с контрольными животными. После воздействия СМД  $10^{-13}$  М ГАЛ отмечено плавное повышение уровня концентрации свободного Т3 в сыворотке крови у крыс с ЛГМС на 11,9 %. После воздействия СМД  $10^{-14}$  М ГАЛ – 9,2 %. После применения СМД ГАЛ  $10^{-15}$  М повышение уровня концентрации свободного Т3 в сыворотке крови составляло 9,0 %, а в случае СМД  $10^{-16}$  М – 11,4 %. При исследовании воздействия СМД ХЭД  $10^{-17}$  М у двенадцатимесячных крыс с ЛГМС получено повышение уровня концентрации свободного Т3 на 12,3 %.

Подводя итоги данной серии исследований, можно сделать вывод о том, что все использованные СМД ГАЛ проявляют протекторное действие в отношении изменения референсных диапазонов концентрации свободного Т3 в сыворотке крови у крыс с ЛГМС, в особенности СМД ХЭД  $10^{-17}$  М, как и в случае исследования воздействия СМД ГАЛ в отношении референсных диапазонов концентрации сывороточного ТТГ.

В следующей серии исследований нами было изучено дозозависимое влияние ГАЛ на концентрацию свободного Т4 в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при ЛГМС (рис. 3). Наблюдалось стойкое снижение уровня концентрации свободного Т4 в сыворотке крови у спинальных крыс на 9,1 % по сравнению с контрольными животными. После воздействия СМД  $10^{-13}$  М ГАЛ зафиксировано плавное повышение уровня концентрации свободного Т3, составляющее 8,4 %. После воздействия СМД  $10^{-14}$  М ГАЛ плавное повышение уровня концентрации свободного Т4 составляло 8,7 %. После применения СМД ГАЛ  $10^{-15}$  М повышение уровня концентрации свободного Т4 составляло 8,9 %, а в случае СМД  $10^{-16}$  М – 8,7 %. При исследовании воздействия СМД ГАЛ  $10^{-17}$  М у двенадцатимесячных крыс с ЛГМС выявлено повышение уровня концентрации свободного Т4 на 9,0 %.

Подводя итоги данной серии исследований, можно сделать вывод о том, что у спинальных крыс все использованные СМД ГАЛ проявляют протекторное действие в отношении изменения референсных диапазонов концентрации свободного Т4 в сыворотке крови у крыс с ЛГМС, в особенности СМД ХЭД  $10^{-17}$  М.

Медикаментозное лечение острых травм позвоночника остается спорным вопросом. Основными его звеньями являются противоотечная, дегидратационная терапия и препараты, улучшающие оксигенацию СМ. Применяют кортикостероиды, основываясь на теоретических выводах о том, что они стабилизируют клеточные и сосудистые мембраны и предотвращают отёк аксонов, однако основательной информации в пользу их эффективности нет. В настоящее время на практике терапевтическое лечение нейродегенеративных соматических заболеваний и травматической болезни СМ, как правило, ограничивается назначением общеукрепляющих и поддерживающих лекарственных средств: витаминов группы В, Е, АТФ, метионина, глутаминовой кислоты и пр. [1, 5].

Данные настоящего исследования свидетельствуют о протекторном действии гипоталамического нейропептида ГАЛ в СМД  $10^{-13}$ – $10^{-17}$  М в отношении нормализации процессов концентрации ТТГ и ТГ в сыворотке крови у крыс с ЛГМС. На основании результатов проведенных исследований можно сделать вывод о целесообразности применения гипоталамического нейропептида ГАЛ при органичес-

ких повреждениях СМ типа ЛГМС в отношении показателей ТТГ и ТГ в крови у крыс, что иллюстрируется полученными данными. Нашими предыдущими исследованиями также установлена протекторная роль ГАЛ при острой нейродегенерации мотонейронов спинного мозга, вызванной змеиными ядами [3].

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Андреасян А.С., Киприян Т.К., Матинян Л.А., Нагапетян Х.О.* Особенности пластичности повреждённой нервной системы и значение некоторых факторов. Научные труды I съезда физиологов СНГ. Сочи, Дагомыс, 19-23 сент., 2, с. 161, 2005.
2. *Априкян В.С., Галоян А.А.* Иммунокорригирующие свойства нового гипоталамического полипептида при макрофаг ассоциированных бактериальных дисфункциях. Мед. наука Армении НАН РА, XXXIX, 4, с.29-36, 1999, а.
3. *Киприян Т.К., Хачатрян Т.С.* Протекция гипоталамическим нейрогормоном острой нейродегенерации мотонейронов спинного мозга, вызванной змеиными ядами. Ж. Информационные технологии и управление, 5, с. 68-75, 2007.
4. *Неи Е.Б.* Ведущие симптомы в гомеопатии. Харьков: Прогресс-ЛТД, 224 с., 1993.
5. *Розен В.Б.* Основы эндокринологии. М., Изд. МГУ, с. 1-55, 1994.
6. *Стоукс Дж.* Гомеопатия. М., ФАИР-ПРЕСС, 272 с., 2000.
7. *Buchner H., Tscherne H.* Paralysis by transverse lesion in multiple injuries. Arch. Orthop. Unfallchir., 62, 1, pp. 60-63, 1967.
8. *Fawcett J.V.* Bridging spinal cord injuries. Rehabil. Med., 9, 40, pp. 780-782, 2008.
9. *Galoyan A.A.* Neurochemistry of brain neuroendocrine immune system: signal molecules. J. Neurochem. Res., 25, pp. 1343-1355, 2000, a.
10. *Galoyan A.A., Terio T., Berg M., Marks N.* Effects of proline-rich peptide derived from Neurophysin-II on caspases of murine neuroblastoma: evidences for caspase-2 and -6 activation. J. Neurochemistry (RAS and NAS RA), 17, pp. 185-188, 2000, b.
11. *Kiwerski J., Weiss M., Pasiczek R.* Stimulation of the spinal cord following its traumatic lesion. J. Chir. Narzadow. Ruchu. Ortop. Pol., 43, 1, pp. 23-28, 1978.
12. *Matinyan L. A., Allaverdyan A. G., Nahapetyan Kh. H., Andreassian A. S., Chavushian V. A., Kipriyan T. K.* To plasticity mechanisms in injures of the spinal cord. 37<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the International Medical Society of Paraplegia, pp. 18-2, Brazil, 1998.
13. *Noguera E.M., Sic R., Solis F.* Intramedullary spinal cord neurocysticercosis presenting as brown-sequard syndrome. J. BMC Neurol., 15, pp. 1-11, 2015.
14. *Street D.M.* Traumatic paraplegia treated by vertebral resection, excision of spinal cord lesion, suture of the spinal cord, and interbody fusion. Proc. Annu. Clin. Spinal Cord Inj. Conf., Sep 27, 16, pp. 92-103, 1967.

Поступила 20.01.2015