

УДК 615.214:616.89-008.447-084-092.9

А.В. Іванов

ПРОФІЛАКТИКА ПОРУШЕНЬ ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ НООТРОПІВ З ВАЛЬПРОАТОМ НАТРІЮ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки
(зав. – д.м.н., проф. В.Й. Мамчур)
Дніпропетровськ, 49044, Україна
SE "Dnipropetrovsk medical academy Ministry of Health of Ukraine"
pharmacology, clinical pharmacology and pharmacologic economy department
Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine
e-mail: ivanov333@ukr.net

Ключові слова: поведінкові реакції, м'язовий тонус, вальпроат натрію, пірацетам, цитиколін, мемантин
Key words: behavioral reactions, muscle tone, sodium valproate, piracetam, citicoline, memantine

Реферат. Профилактика нарушений поведенческих реакций крыс при применении ноотропов с вальпроатом натрия. **Иванов А.В.** Применение противосудорожных средств может провоцировать ряд побочных эффектов, в том числе возможны изменения поведения и психоэмоционального состояния людей, больных эпилепсией, вероятно появление немотивированной агрессии, нервозности, нарушения координации, тяги ко сну, энцефалопатии. Однако и сама эпилепсия как хроническая неврологическая патология вызывает когнитивный и «эпилептический» дефицит, у больных развивается общая замедленность, инертность психической деятельности, снижение познавательных способностей. Поэтому целесообразно сочетать антиконвульсанты с ноотропами, обладающими способностью защищать мозг и повышать резистентность организма к экстремальным воздействиям, а также снижать неврологические дефициты, восстанавливать нарушенные мнестические и умственные функции. В статье рассмотрены вопросы применения ноотропов на фоне действия антиконвульсанта вальпроата натрия (80 мг/кг). Тестирование поведенческих реакций белых крыс в тесте «Открытое поле» и мышечного тонуса белых мышей в блиц-тесте «миорелаксация» проводили на 4-е сутки введения ноотропов через 1 час после однократного применения вальпроата натрия. Показано в эксперименте, что вальпроат натрия осуществлял общее депримирующее действие на ориентировочно-исследовательскую активность крыс: двигательная активность снижалась по количеству пройденных квадратов на 62,8% и по количеству вертикальных стоек на 80%, заглядывания в норки уменьшались на 58,7% по сравнению с контролем. В тесте «миорелаксация» вальпроат натрия уменьшал мышечную силу мышей на 38,6%. На фоне применения антиконвульсанта пирацетам (500 мг/кг) не влиял на поведенческие реакции крыс и мышечный тонус мышей. Цитиколлин (500 мг/кг) повышал двигательную активность крыс по количеству пересеченных квадратов на 29,7%, по количеству вертикальных стоек - на 20%, а также повышал исследовательскую активность (количество норок) на 15,8%; выносливость мышей увеличивал на 18,6% относительно вальпроата натрия. Мемантин (10 мг/кг) в комбинации с вальпроатом натрия незначительно снижал (на 8,4%) двигательную активность крыс, однако повышал исследовательскую активность крыс - на 30,5%; удержание мышей на проволоке на 33,3% продлевалось относительно монопрепарата.

Abstract. Prevention of disorders of behavioral reactions in rats using nootropics with sodium valproate. **Ivanov A.V.** Using of anticonvulsants can trigger a number of side effects, such as possible changes in behavior and emotional state of people with epilepsy, risk of unwarranted aggression, nervousness, discoordination, sleepiness, encephalopathies. However, the epilepsy itself as a chronic neurological pathology causes cognitive and "epileptic" deficiency, in patients general retardation, sluggishness of mental activity, decreased cognitive abilities develop. Therefore it is advisable to combine anticonvulsants with nootropics with their ability to protect the brain and increase body's resistance to extreme stress, reduce neurological deficits, restore damaged mnestic and mental functions. The author considered the use of nootropics on the background of anticonvulsant sodium valproate (80 mg/kg). Behavioral reactions of white rats in the test "Open field" and muscle tone of white mice in the test "muscle relaxation" were performed on the day 4 nootropics introduction in 1 hour after a single sodium valproate application. It's shown experimentally that sodium valproate provided systemic depriming action on orientation and exploratory activity of rats: locomotor activity reduced in the number of squares strolled by 62.8% and in the number of vertical uprights by 80%, the amount of peeping into the burrows decreased by 58.7% as compared with the control. In the test "muscle relaxation" sodium valproate reduced muscle strength of mice by 38.6%. Against the background of anticonvulsant application piracetam (500 mg/kg) had no effect on the behavioral responses of rats and muscle tone of mice. Citicoline

(500 mg/kg) increased locomotor activity in the number of squares crossed by 29.7%, in the number of vertical racks – by 20%, and the endurance of mice by 18.6%. Memantine (10 mg/kg) in combination with sodium valproate insignificantly decreased (by 8.4%) locomotor activity of rats, but increased exploratory activity by 30.5%; withholding of mice on the wire prolonged by 33.3% as compared to monotherapy.

Епілепсія - захворювання, що вимагає тривалої, багаторічної (не менше ніж 2 роки після припинення нападів) терапії. Серед пацієнтів - значна кількість дітей і літніх людей, для яких особливо важливим є застосування препаратів з невеликою кількістю побічних явищ, відсутністю токсичного впливу на інші органи й мінімальною взаємодією з іншими препаратами [8]. У контингенті хворих також є значна частка потенційно працездатних молодих людей, для яких застосування нетоксичного високоефективного препарату протягом декількох років з потенційним одужанням є перевагою – на відміну від довічної інвалідності при прийомі антиконвульсантів першої генерації [9]. В останні 20 років вальпроєва кислота та її натрієва сіль - вальпроат натрію - набули широкого застосування в клінічній практиці і зараз вважаються одним з найбільш ефективних протисудомних засобів. Випробування на тваринах і пізніші клінічні випробування продемонстрували, що вальпроєва кислота має мінімальну кардіоваскулярну і транквілізуючу активність. Проте застосування вальпроату натрію може провокувати ряд побічних ефектів: можливий розвиток тремтіння кінцівок, інколи змінюється поведінка пацієнта, його психоемоційний стан, імовірна поява видінь, невмотивованої агресії, нервозності, порушення координації, мігреноподібного болю, тяги до сну, енцефалопатії. Препарат може викликати явища загального пригнічення і втоми. Це необхідно враховувати при призначенні його людям, які виконують напружену фізичну й розумову роботу [10].

Тому доцільно поєднувати антиконвульсанти з препаратами, що впливають на окисно-відновні процеси, нормалізують метаболізм центральної нервової системи (ЦНС), підвищують енергозабезпеченість тканин. Такими препаратами є ноотропи, що мають здатність захищати мозок і підвищувати резистентність організму до екстремальних впливів (гіпоксія → ішемія, травма мозку, епілепсія та ін.), а також знижувати неврологічні дефіцити, відновлювати порушені мнестичні й розумові функції. Здатність окремих препаратів групи ноотропів проявляти протисудомні властивості відома з часу початку їх застосування в клінічній практиці, однак їх використання з цією метою досить обмежене [7]. Це пояснюється тим, що протисудомний потенціал антиамнестичних засобів поступається

існуючим сьогодні профільним засобам антиконвульсивного ряду. В експерименті було показано, що ГАМК і мелатонін дозозалежно продовжували латентний період настання судом у щурів [7]. Пірацетам у дозах 300 і 600 мг/кг протисудомну дію по відношенню до коразолу не мав [2].

Мета роботи - порівняльне дослідження впливу церебропротекторів на поведінкові реакції щурів, фізичну працездатність мишей при дії протисудомного препарату вальпроату натрію.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження були проведені на 50 білих нелінійних щурах масою 180 – 220 г та 30 білих нелінійних мишах масою 17-25 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію (температура повітря: $22 \pm 2^\circ\text{C}$, світлий/темний цикл: 12/12 годин).

Препарати: пірацетам (20% розчин для ін'єкцій, по 5 мл, виробництва «Дарниця», Україна) в дозі 500 мг/кг, внутрішньоочеревино, цитиколін («Цераксон», розчин для внутрішнього застосування 100 мг/1 мл по 4 мл, виробництва «Nycomed») у дозі 500 мг/кг, внутрішньошлунково, мемантину гідрохлорид («Мема», таблетки по 10 мг, виробництва «Actavis») у дозі 10 мг/кг, внутрішньошлунково; всі ноотропи вводили 1 раз на добу протягом 4-х діб; вальпроат натрію («Орифил», таблетки по 300 мг, виробництва «Desitin Arzneimittel GmbH») у дозі 80 мг/кг, внутрішньошлунково однократно вводили за 1 годину до експерименту. Всі тварини були випадковим чином розділені на 5 груп по 10 щурів у кожній: група 1 отримувала вальпроат 80 мг/кг; група 2 – вальпроат 80 мг/кг + пірацетам 500 мг/кг; група 3 – вальпроат 80 мг/кг + цитиколін 500 мг/кг; група 4 – вальпроат 80 мг/кг + мемантин 10 мг/кг; група 5 - контрольна група (інтактні щури). Дози ноотропів і вальпроату обирали згідно з даними літератури, а також напрацьовані в нашій лабораторії. Введення ноотропних засобів тривало 4 доби, оскільки для досягнення терапевтичного ефекту вони потребують повторних прийомів.

Методи вивчення поведінки, м'язового тону. Тест «відкрите поле» дозволяє визначити тип дії лікарського засобу на ЦНС, а також з'ясувати характер його впливу на орієнтовно-дослідницьку активність і емоційну сферу експериментальних тварин [1]. Реєстрацію результатів

тестування показників безумовно-рефлекторної активності щурів проводили шляхом підрахунку перетнутих квадратів (горизонтальна рухова активність), кількості підйомів на задні лапи (вертикальна рухова активність), кількості заглядань у «нірки» (дослідницька активність), тривалості актів грумінгу та кількості болюсів дефекацій (емоційно-вегетативні реакції) протягом 3 хвилин спостереження [3]. Визначення фізичної працездатності мишей виконували в тесті «натягнутого дроту» (або «міорелаксація») згідно з методикою [5, 6]. Тестування поведінкових реакцій та м'язового тону проводили на 4-у добу введення ноотропів через 1 годину після однократного застосування вальпроату натрію.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики за допомогою програми статистичного аналізу StatPlus, AnalystSoft. Версія 2006. (див. <http://www.analystsoft.com/ru/>) на персональному комп'ютері «Intel Pentium-IV». Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (M), їх стандартного відхилення (SD), вірогідність різниці середніх арифметичних (p) за допомогою

критерію Колмогорова-Смірнова та критерію хи-квадрат χ^2 .

Усі експериментальні процедури здійснені згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках» та Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, які використовуються в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати впливу комбінацій ноотропів з антиконвульсантом на поведінку щурів у тесті «відкрите поле» наведено у таблиці 1, на рисунку 1. Дослідження показали, що вальпроат натрію 80 мг/кг здійснював загальну депримуєчу дію на орієнтовно-дослідницьку активність щурів (табл. 1). Так, горизонтальна активність щурів знижується на 62,8% ($p < 0,001$), кількість вертикальних стійок зменшується на 80,0% ($p < 0,001$). Пригнічується і нірковий рефлекс – кількість заглядань у нірки зменшується при застосуванні вальпроату на 58,7% ($p < 0,001$) порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив ноотропів з вальпроатом натрію на показники поведінкових реакцій щурів у тесті «відкрите поле» (n = 10)

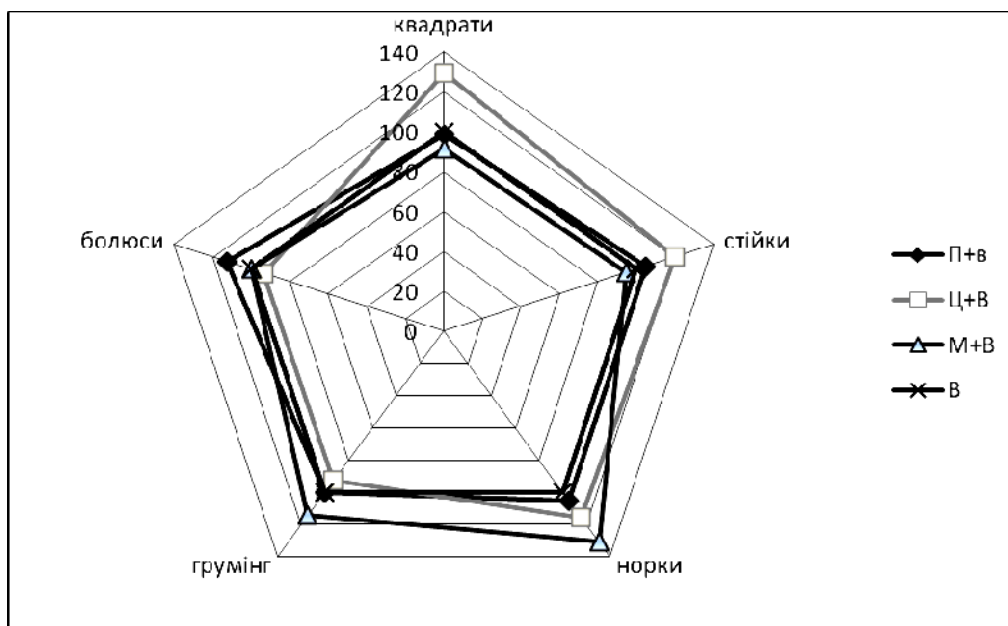
Препарат, мг/кг	Показники тесту «відкрите поле», M±SD				
	нірки	квадрати	стійки	грумінг	дефекація
Вальпроат, 80	1,9±0,74*	13,1±2,23*	2±1,41*	1,4±0,97**	1,6±0,70
Вальпроат 80 + Пірацетам 500	2±1,25*	12,9±2,33*	2,1±0,74*	1,4±0,84**	1,8±1,03
Вальпроат 80 + Цитиколін 500	2,2±1,32*	17±3,46*	2,4±0,84*	1,3±0,95**	1,5±1,08
Вальпроат 80 + Мемантин 10	2,1±0,74*	12±2,21*	1,9±1,20*	1,6±0,97**	1,6±1,07
Контроль	4,6±1,5	35,2±8,05	10±2,71	2,7±1,34	2,1±0,99

Примітка: * - $p < 0,001$ – порівняно з групою контролю, ** – $p < 0,05$ – порівняно з групою контролю

Додавання до антиконвульсанту пірацетаму не призводить до суттєвого відновлення рухової та дослідницької активності щурів.

Сполучення вальпроату з цитиколіном сприяє підвищенню кількості перетнутих квадратів на 29,7% ($p < 0,05$) та вертикальних стійок на 20%, збільшує кількість нірок на 15,8% відносно вальпроату натрію (рис.).

Введення вальпроату з мемантином не впливає на рухову активність щурів, проте значно збільшує дослідницьку активність - кількість заглядань у нірки - на 30,5% ($p < 0,05$) порівняно з монопрепаратом (рис.).



Зміни поведінкових реакцій щурів у тесті «відкрите поле» в умовах введення ноотропів з вальпроатом натрію (В – вальпроат натрію; П – пірацетам; Ц – цитиколін; М – мемантин)

У тесті «міорелаксація» вальпроат натрію зменшує м'язову силу мишей на 38,6% ($p < 0,001$) порівняно з контрольними (інтактними) тваринами. Ноотропи корегують дію вальпроату натрію різною мірою. Так, введення пірацетама

збільшує час утримування мишей на дроті лише на 10,07%, застосування цитиколіну - на 18,6% ($p = 0,05$), найбільшій витривалості мишей сприяє мемантин – збільшує час перебування на дроті на 33,3% ($p = 0,001$) відносно вальпроату натрію.

Таблиця 2

Зміни міорелаксації мишей при введенні ноотропів з вальпроатом натрію (за даними тесту «натягнутий дріт») (n=6)

Препарат, мг/кг	Показники	
	М, с	SD
Вальпроат, 80	21,5*	3,62
Вальпроат+Пірацетам, 80+500	23,67*	1,63
Вальпроат+ Цитиколін, 80+500	25,5*/**	1,05
Вальпроат+ Мемантин, 80+10	28,67*/**	2,16
Контроль	35	5,4

Примітка: * - $p < 0,001$ – порівняно з контрольною групою; ** – $p < 0,05$ порівняно з вальпроатом

ВИСНОВКИ

1. Пірацетам, цитиколін і мемантин у комплексному застосуванні з антиконвульсантом вальпроатом натрію різною мірою впливають на поведінкові реакції щурів. Пірацетам практично не впливає на ці показники, цитиколін збільшує рухову активність тварин, мемантин покращує дослідницьку активність щурів.

2. Ноотропи з вальпроатом натрію різною мірою впливають на фізичну працездатність мишей. Пірацетам практично не впливає на витривалість мишей, цитиколін збільшує м'язову силу тварин на 18,6%, а мемантин – на 33,3%.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абуладзе Г.В. Изучение эмоциональности крыс и мышей в поведенческих и фармакологических экспериментах методом «открытое поле» / Г.В. Абуладзе // Известия АН СССР. Сер. Биология. – 1983 – Т. 9, № 3. – С. 156-165.
2. Ахапкина В.И. Сравнительная характеристика ноотропной активности препарата Фенотропил / В.И. Ахапкина, Т.А. Воронина // Материалы XI Рос. нац. конгресса «Человек и лекарство». – М., 2004. – С. 70.
3. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
4. Доклінічне вивчення специфічної активності потенціальних протисудомних препаратів: [метод. рекомендації]; під ред. акад. Головенко М. А., проф. Громова Л.О. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2003. – 46 с.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: (метод. рекомендації) / за ред. Стефанова О.В. – К.: видавничий дім «Авіцена», 2002. – 527с.
6. Калуев А.В. Стресс, тревожность и поведение. Актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных / Калуев А.В. – К., 1998. – 95 с.
7. Ярош А.К. Ноотропная активность комбинации аминалона и мелатонина при курсовом применении / А.К. Ярош, В.И. Мамчур, С.П. Халимончик // Материалы съезда фундаментальных проблем фармакологии. – М., 2003. – С. 306.
8. Beghi E. Randomised controlled monotherapy trials: which comparators to use? / E. Beghi // *Epileptic Disord.* – 2012. – Vol. 14, N 3. – P. 235-241.
9. Kang H.C. Efficacy and safety of the combined therapy of valproic acid and lamotrigine for epileptics / H.C. Kang, Q. Hu, X.Y. Liu // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2012. – Vol. 92, N 17. – P. 1174-1178.
10. Thome-Souza S. Late adverse effects of the coadministration of valproate and lamotrigine / S. Thome-Souza, B. Moreira, K.D. Valente // *Pediatr. Neurol.* – 2012. – Vol. 47, N 1. – P. 47-50.

REFERENCES

1. Abuladze GV. Izuchenie emotsionalnosti krysis i myshyey v povedencheskih i farmakologicheskikh eksperimentah metodom «otkryitoe pole». *Izvestiya AN SSSR. Ser. Biologiya.* 1983;9(3):156-65.
2. Ahapkina VI, Voronina TA. Sravnitel'naya harakteristika nootropnoy aktivnosti preparata Fenotropil. *Materialy XI Ros. nats. kongressa «Chelovek i lekarstvo»;* 2004.
3. Buresh Ya, Bureshova O, Hyuston DP. Metodiki i osnovnyie eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya. *Vysshaya shkola;* 1991.
4. Golovenko MA, Gromova LO. Doklinichne vivchennya spetsifichnoyi aktivnosti i potentsialnih protisudomnih preparativ (metod. rekomendatsiyi). *DFTs MOZ Ukrayini;* 2003.
5. Stefanova OV. Doklinichni doslidzhennya likarskih zasobiv: (metod. rekomendatsiyi). *Vidavnyichiy dim «Avitsena»;* 2002.
6. Kaluev AV. Stress, trevozhnost i povedenie. *Aktualnyie problemyi modelirovaniya trevozhnogo povedeniya u zhiivotnyih;* 1998.
7. Yarosh AK, Mamchur VI, Halimonchik SP. Nootropnaya aktivnost kombinatsii aminimalona i melatonina pri kursovom primenenii. *Materialy s'ezda fundamentalnyih problem farmakologii;* 2003.
8. Beghi E. Randomised controlled monotherapy trials: which comparators to use? *Epileptic Disord.* 2012;14(3):235-41.
9. Kang HC, Hu Q, Liu XY. Efficacy and safety of the combined therapy of valproic acid and lamotrigine for epileptics. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2012;92(17):1174-8.
10. Thome-Souza S, Moreira B, Valente KD. Late adverse effects of the coadministration of valproate and lamotrigine. *Pediatr. Neurol.* 2012;47(1):47-50.

