



Ю.Л. Панасюк, В.І. Жилюк

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПІРАЦЕТАМУ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЙ З ГЛУТАРГІНОМ ТА ТІОТРИАЗОЛІНОМ НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ТА ПРОЦЕСИ НАВЧАННЯ У ЩУРІВ З «АЛКОГОЛЬНИМ ГЕПАТИТОМ»

Дніпропетровська державна медична академія

Ключові слова: етанол, когнітивні функції, глутаргін, пірацетам, тіотриазолін.

Ключевые слова: этанол, когнитивные функции, глутаргин, пирацетам, тиотриазолин.

Key words: ethanol, cognitive functions, glutararginum, pyracetam, thiotriazolium.

В дослідях на білих щурах з патологічною моделлю «алкогольного гепатиту» встановлено порушення мнестичних процесів (УРПУ), поведінкових реакцій та біохімічних показників функцій печінки. Введення пірацетаму та його комбінацій з глутаргіном та тіотриазоліном супроводжувалось частковим відновленням функцій ЦНС і гепатоцитів.

В опытах на белых крысах с патологической моделью «алкогольный гепатит» установлено нарушение мнестических процессов (УРПИ), поведенческих реакций и биохимических показателей функций печени. Введение пирацетама и его комбинаций с глутаргином и тиотриазолином сопровождалось частичным восстановлением функций ЦНС и гепатоцитов.

In the experiments on white rats with pathological model «alcoholic hepatitis» memory impairment (conditioned reflex passive avoidance), behavioural reactions and biochemical indicators of liver function is established. Introduction pyracetam and its combinations with glutararginum and thiotriazolium was accompanied by partial restoration functions of central nervous system and hepatocytes.

Проведено дослідження впливу пірацетаму та його комбінацій з глутаргіном та тіотриазоліном на процеси навчання та поведінкові реакції у щурів за умов «алкогольного гепатиту». Встановлено, що введення пірацетаму та його комбінацій з глутаргіном та тіотриазоліном сприяє відновленню порушених функцій, що виникають внаслідок даної патології. Серед різних видів патології ЦНС певне місце займає так звана «алкогольна енцефалопатія», певний вклад в розвиток якої вносить печінкова дисфункція або алкогольний гепатит [1]. Патологічний стан ЦНС при ураженнях печінки або печінкова енцефалопатія являє собою комплекс зворотних, на початковій стадії, психічних порушень, що обумовлені печінковою недостатністю. Внаслідок порушень ферментативної функції гепатоцитів погіршуються процеси детоксикації, в тому числі азотвміщуючих з'єднань, накопичення яких приводить до уражень нейронів. Енцефалопатія – результат токсичного впливу на центральну нервову систему продуктів метаболізму з'єднань азоту, котрі в здоровому організмі інактивуються печінкою. Результатом розвитку енцефалопатії є втрата або зменшення працездатності, порушення свідомості, погіршення пам'яті та навчання. У зв'язку з цим актуальним є питання про розробку найбільш ефективної медикаментозної корекції даної патології. В зв'язку з цим, набуває важливого значення та актуальності дослідження дії ноотропних препаратів при алкогольному гепатиті [2, 3, 4].

МЕТОЮ проведеної **РОБОТИ** було визначення впливу пірацетаму та його комбінацій з глутаргіном та тіотриазоліном на когнітивні функції та поведінкові реакції у щурів за умов «алкогольного гепатиту».

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на 30 білих нелінійних щурах обох статей масою 180-220 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію ДДМА [5, 6]. Піддослідних тварин було розподілено на окремі групи по 6 тварин у кожній: I – інтактні щури (пасивний контроль); II – тварини з „алкогольним гепатитом” (АГ) (активний контроль); III – АГ+

пірацетам у дозі 400 мг/кг; IV – АГ + пірацетам, 400 мг/кг + тіотриазолін 100 мг/кг; V – АГ + пірацетам, 400 мг/кг + глутаргін, 400 мг/кг.

Формування експериментального еквіваленту патології печінки проводили згідно методичних рекомендацій [7]. „Алкогольний гепатит” відтворений шляхом внутрішньошлункового введення 40% етилового спирту в дозі 7 мл/кг, на протязі 7 діб, за 60 хвилин до введення дослідних препаратів та їх комбінацій.

Характер відтворення енграм пам'яті у тварин вивчався по умовній реакції пасивного уникнення (УРПУ), яку відтворювали на основі одноразового електрошкірного підкріплення за методикою Я. Буреша та співавторів [8], в модифікації Ю.С. Бородкіна, Ю.В. Зайцева [9]. Для цього, на сьомий день дослідження (через 2 години, після останнього введення етилового алкоголю та лікарських засобів) протягом 3 хвилин, проводили оцінку спонтанної рухової активності у камері з відкритими дверцятами. На восьмий день дослідження виробляли УРПУ, для чого відкривали дверцята і тварину поміщали в освітлений відсік та фіксували латентний період заходу в темний відсік. У цьому відсіку (після закриття дверей) через електрифіковану підлогу наносили 5 ударів струмом через 5 с напругою 40 В. На дев'ятий день, тварин поміщали в освітлений відсік і протягом 3 хвилин спостерігали за його поведінкою. Реєстрували латентний період заходу в темний відсік.

Вивчення рухово-дослідницької активності експериментальних тварин проводили на восьму добу дослідження в тесті “відкрите поле” [7, 10].

Ступінь вираження ураження печінки визначали по активності трансаміназ АсАТ та АлАТ, та розрахунку коефіцієнта де Рітиса, який використовують як індекс лізису гепатоцитів [11].

Досліджувані препарати вводили внутрішньошлунково зазначеними дозами 1 раз на добу протягом 5 діб, починаючи з третього дня формування патології. На 9 добу тварин виводили з експерименту шляхом декапітації.



Таблиця 1

Вплив пірацетаму та його комбінацій з тіотріазоліном та глутаргіном на активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази, коефіцієнт де Рітиса у щурів з «алкогольним гепатитом»

Показники	Стат. показники	Початковий фон	Алкоголь (40%) (7мл/кг)	Тіотріазолін+ Пірацетам (100мг/кг, 400мг/кг)	Пірацетам (400 мг/кг)	Глутаргін+ Пірацетам (400мг/кг, 400мг/кг)
АлАТ (мкмоль/ год·мл)	M±m	0,11322±0,00769	0,34826±0,01371 ##	0,20320±0,00340 **	0,36038±0,00982	0,17376±0,00915 **
АсАТ (мкмоль/ год·мл)	M±m	0,20389±0,01177	0,213322±0,00859	0,20477±0,00684	0,21097±0,00950	0,19591±0,01116
коефіцієнт де Рітиса	M±m	1,80083±0,04651	0,61253±0,01892 ##	1,00772±0,05423 **	0,58541±0,02730	1,12747±0,04474 **

Примітка: * – P < 0,01; ** – P < 0,001 – вірогідні відмінності по відношенню до відповідного показника контролю; # – P < 0,01; ## – P < 0,001 – вірогідні відмінності по відношенню до відповідного показника початкового фону групи;

Таблиця 2

Вплив препаратів на поведінкові реакції у щурів з «алкогольним гепатитом» в тесті «відкрите поле» (M±m)

№ з/п	Умови експерименту	Показники поведінкових реакцій		
		Рухова активність	Дослідницька активність	
		Горизонталі	Вертикалі	Нірки
	Початковий фон	31,55±5,07	6,39±2,61	3,65±1,85
	Інтактна група	26,48±4,83	6,60±1,94	3,72±1,33
	Контроль	6,30±1,80##	0,40±0,39#	0,40±0,54#
	Тіотріазолін+Пірацетам (100мг/кг, 400мг/кг)	21,10±3,52**	4,20±1,64*	3,60±1,53*
	Пірацетам (400 мг/кг)	14,50±2,88*	3,50±0,78**	2,00±1,27
	Глутаргін+Пірацетам (400мг/кг, 400мг/кг)	22,10±2,17**	6,60±2,46*	3,80±1,52*

Примітка: * – P < 0,01; ** – P < 0,001 – вірогідні відмінності по відношенню до відповідного показника контролю; # – P < 0,01; ## – P < 0,001 – вірогідні відмінності по відношенню до відповідного показника інтактної групи.

Статистичну обробку отриманих даних проводили методом варіаційної статистики. Достовірність отриманих даних оцінювали використовуючи однофакторний дисперсійний аналіз, та t-критерій Ст'юдента [12].

Усі експериментальні процедури та оперативні втручання здійснювали згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках» [13].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно отриманих нами даних показано, що субхронічне застосування етилового алкоголю та розвиток внаслідок цього гепато-целюлярної патології призводить до порушення орієнтовно-дослідницької активності, підвищення рівня тривожності та погіршення процесів навчання.

Свідченням ураження печінки, в даних умовах досліду, слугувало збільшення втретє активності АлАТ та зменшення на 66% (P < 0,001) коефіцієнта де Рітиса.

Дослідженнями орієнтовно-дослідницької діяльності у тесті «відкрите поле», встановлено значне зниження активності поведінкових реакцій тварин контрольної гру-

пи. Так, на 8 добу експерименту у тварин з алкогольним ураженням печінки, у порівнянні з інтактною групою, виразно знижуються показники дослідницької та рухової активності (табл. 2). У цих щурів відмічалось значне зниження кількості перетнутих квадратів на 76% (p < 0,001) та вертикальних підйомів на 94% (P < 0,01) та кількості заглядань у нірки на 89% (P < 0,01). Отримані результати свідчать про те, що у даної категорії щурів на 8-у добу спостереження відмічаються різко виражені порушення загальної рухової та дослідницької активності.

Зіставні результати отримані і при дослідженні УРПУ. Так встановлено, що через 9 діб після моделювання «алкогольного гепатиту» в 60% випадків у експериментальних тварин наставала амнезія виробленої навички умовної реакції пасивного уникнення. При цьому латентний період заходу тварини в темну камеру на 91% (P < 0,001) був меншим, у порівнянні з показником, що був зафіксований у групі щурів пасивного контролю (табл. 3). Це свідчить про виразне пригнічення процесів навчання за даних умов експерименту.



Вплив препаратів на збереження навички умовного рефлексу пасивного уникнення у щурів (M±m)

№ з/п	Умови експерименту	Кількість щурів (в %) що залишились в освітленій камері	Латентний період рефлексу при відтворенні УРПУ, сек
	Початковий фон	0	6,87±1,88
	Інтактна група	100	>180
	Контроль	40	15,80±4,80 ^{##}
	Тіотріазолін+Пірацетам (100мг/кг, 400мг/кг)	100	>180 ^{**}
	Пірацетам (400 мг/кг)	40	77,50±20,50 ^{**}
	Тіотріазолін (100мг/кг)	20	100,00±26,50 ^{**}
	Глутаргін+Пірацетам (400мг/кг, 400мг/кг)	80	147,00±34,40 ^{**}
8.	Глутаргін (400 мг/кг)	20	38,33±12,50*

Примітка: * – P < 0,01; ** – P < 0,001 – вірогідні відмінності по відношенню до відповідного показника контролю; # – P < 0,01; ## – P < 0,001 – вірогідні відмінності по відношенню до відповідного показника інтактної групи.

Внутрішньошлункове застосування пірацетаму (400 мг/кг) сприяло покращенню показників рухової активності (табл. 2), що виражалось у збільшенні числа пересічених квадратів у 2,3 рази (P > 0,01), а також кількості вертикальних підйомів у 8,75 рази (P > 0,001). У цей час відмічалася і позитивна тенденція щодо впливу препарату на дослідницьку активність, однак даний показник вірогідно не відрізнявся від аналогічного зафіксованого у контрольній групі тварин.

Направленість дії пірацетаму (400 мг/кг) при комбінованому внутрішньошлунковому застосуванні з глутаргіном (400 мг/кг), сприяла відновленню пригнічених функцій у тварин з алкогольним ушкодженням печінки. Всі досліджені показники рухової та дослідницької активності вірогідно не відрізнялися від аналогічних показників зафіксованих в групі пасивного контролю, та значно перевищували відповідні значення зафіксовані у тварин з «алкогольним гепатитом» (табл. 2).

При внутрішньошлунковому застосуванні пірацетаму (400 мг/кг) та тіотріазоліну (100 мг/кг), також спостерігалось значне збільшення локомоторної діяльності, яка характеризувалася приростом показників горизонтальної та вертикальної активності у 3,3 (P < 0,001) та 10,5 (P < 0,01) разів відповідно. Слід відзначити, що вказані показники достовірно не відрізнялися від аналогічних даних групи тварин пасивного контролю. У цей час дана комбінація також попереджувала і зниження показника дослідницької активності, що проявлялося достовірно вищим у 9 разів показником кількості обстежених отворів у порівнянні з контрольною групою (табл. 2).

Результати дослідження пам'яті в тесті УРПУ вказують на позитивний вплив пірацетаму на процеси первинної обробки та відтворення інформації. Про це свідчить збільшення в 4,9 рази латентного періоду після введення даного засобу.

Виразна позитивна динаміка спостерігалася і при курсовому внутрішньошлунковому введенні комбінації пірацетаму (400 мг/кг) та глутаргіну (400 мг/кг), яка виражалася у збільшенні латентного періоду в 9,3 рази у порівнянні з групою активного контролю. У цей час комбіноване застосування, у відповідності до протоколу досліджень, пірацетаму (400 мг/кг) з тіотріазоліном (100 мг/кг) сприяло 100% збереженню пам'ятного сліду за умов даної патології печінки (таблиця 3).

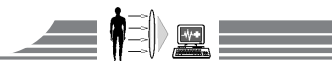
Необхідно відзначити, що найбільш виразний позитивний вплив на функціональний стан печінки, у порівнянні з іншими дослідними групами, виявляв курс комбінованого застосування пірацетаму (400 мг/кг) та глутаргіну (400 мг/кг), що проявлялось зростанням коефіцієнту де Рітца на 84% у порівнянні з показником групи активного контролю (P < 0,001). (табл. 1).

Отже, в результаті проведених досліджень виявлено, що формування «алкогольного гепатиту» у щурів, призводить до погіршення процесів навчання, а також порушення загальної рухової та дослідницької активності. Вказані порушення можуть слугувати ознаками когнітивного дефіциту у даної категорії тварин. Застосування пірацетаму за даних умов частково відновлює послаблені функції, однак ефективність застосування даного засобу значно зростає за умов його комбінованого застосування з гепатопротекторними препаратами – тіотріазоліном та глутаргіном.

ВИСНОВКИ

Моделювання експериментального субхронічного гепатиту, спричиненого застосуванням етилового алкоголю, у щурів призводить до погіршення процесів навчання та порушення рухової та дослідної активності.

Пірацетам, а також його комбіноване застосування з тіотріазоліном та глутаргіном, сприяють відновленню по-



рушених когнітивних функцій за умов експериментальної патології печінки.

За ступенем активності у відношенні до процесів навчання та поведінкових, реакцій досліджувани препарати можна розмістити наступним чином: пірацетам+тіотріазололін \geq пірацетам+глутаргін $>$ пірацетам.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Вовк Е.И.* Печеночная энцефалопатия в практике врача скорой медицинской помощи / *Е.И. Вовк* // *Лечащий врач.* – 2003. – №9. – С. 52–55.
2. *Лелевич С.В.* Тканевые особенности функционирования пентозофосфатного пути у крыс при острой алкогольной интоксикации / *С.В. Лелевич* // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 2008. – №2(71). – С. 53–55.
3. *Strelets N.V., Utkin S.Y.* Use of the neurometabolic drug “Semax” for complex treatment of alcohol delirium / *N.V. Strelets, S.Y. Utkin* // *European Neuropsychopharmacology.* – 2005. – Vol. 15, №2. – P. 275.
4. *Barnasa C., Millera C., Gunthera V., Fleischhacker W.* Treatment of alcohol organic mental disorder with piracetam / *C. Barnasa, C. Millera, V. Gunthera, W. Fleischhacker* // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* – 1987. – Vol. 11, №6. – P. 729–737.
5. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / [*Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария*

Е.А., Западнюк Б.В.] – К.; Виша школа. Головное издательство, 1983. – 383 с.

6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботі із ними / [*Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайретдінова Г.А.*] – К., 2002. – 126 с.

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / за ред. *О.В. Стефанова.* – вид.дім “Авіцена”, 2002. – 527 с.

8. *Буреш Я.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Буреш. Я., Бурешова О., Хьюстон Д. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.

9. *Бородкин Ю.С.* Нейрохимические механизмы исследования памяти / Ю.С. Бородкин, Ю.В. Зайцев. – Л.: Наука, 1986. – 150 с.

10. *Калуев А.В.* Проблемы изучения стрессового поведения / *Калуев А.В.* – К.:CSF, 1999. – 132 с.

11. *Reitman S., Frankel S.* A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases / *S. Reitman, S. Frankel* // *Am.J.Clin.Pathol.* – 1957. – Vol 28, № 1. – P. 56–63.

12. *Ланач С.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / *Ланач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.* – К.: «Морион», 2001. – 408 с.

13. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // *Експерим. та клін. фізіологія і біохімія.* – 2003. – №2 (22). – С. 108-109.

Відомості про авторів:

Панасюк Юрій Леонідович, аспірант кафедри фармакології, клінічної фармакології та фармакоеконіміки Дніпропетровської державної медичної академії.

Жилюк Володимир Іванович, к. мед. н., старший викладач кафедри фармакології та фармакоеконіміки Дніпропетровської державної медичної академії.

Контактний телефон: 093-742-44-01; e-mail: thoryur@gmail.com