

М. Я. Головенко¹, І. Ю. Борисюк¹, О. В. Карпова¹, А. П. Ворожбит²

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ АЛКОДЕЗУ В ПРОФІЛАКТИЦІ ЕТАНОЛІНДУКОВАНОГО ЗНИЖЕННЯ ЗДАТНОСТІ БІЛИХ ЩУРІВ ДО НАВЧАННЯ

¹ Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса, Україна,
² ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ, Україна

УДК 612.81:615.099.08

Н. Я. Головенко¹, И. Ю. Борисюк¹, О. В. Карпова¹, А. П. Ворожбит² ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АЛКОДЕЗА В ПРОФИЛАКТИКЕ ЭТАНОЛИНДУЦИРОВАННОГО СНИЖЕНИЯ ОБУЧАЕМОСТИ БЕЛЫХ КРЫС

¹ Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, Одесса, Украина,

² ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», Киев, Украина

Сегодня ведется интенсивный поиск эффективных лекарственных средств для профилактики когнитивного дефицита, вызванного острой алкогольной интоксикацией. Целью настоящей работы является изучение профилактической эффективности алкодеза в отношении этанол-индуцированного снижения обучения экспериментальных животных.

Для моделирования тяжелой степени нейротоксического действия этанола крысам-самцам внутрижелудочно вводили раствор этанола (6 г/кг) за 1 ч до обучения, животным второй группы за 1 ч до введения этанола вводили метадоксин (интраперитонеально в дозе 200 мг/кг). Для исследования консолидации энграмм памяти животным первой группы вводили этанол непосредственно после обучения, животным второй подопытной группы вводили метадоксин за 1 ч до обучения и сразу после обучения вводили этанол.

Обучение животных и консолидация следов памяти оценивались по методике УРПИ в двухкамерном аппарате производства Ugo Basile с автоматической регистрацией времени пребывания в светлых и темных отсеках прибора.

В нормальных условиях показатель обучения в контрольной группе достаточно велик. При острой интоксикации этанолом наблюдается нарушение безусловной рефлекторной деятельности и обучения животных. Латентный период перехода в темный отсек у животных, отравленных этанолом, увеличивается в два раза. Алкодез предупреждает негативное воздействие этанола на обучение животных.

Алкодез проявляет некоторое активирующее действие, что проявляется в повышении двигательной активности животных и увеличении их вертикальных стоек. Однако активация, вызванная этим соединением, не нарушает формирования условного рефлекса, наоборот, она облегчает животным формирование активной реакции на условный стимул.

Этанол не влияет на консолидацию следов памяти у белых крыс, в связи с этим невозможно определить фармакологическое действие алкодеза на консолидацию энграмм памяти у этих животных.

Таким образом, алкодез может регулировать процессы памяти не только в норме, но и выступать в роли корректора в случае обратного функционального нарушения стрессовым фактором.

Ключевые слова: метадоксин, этанол, обучаемость, профилактическое влияние.

UDC 612.81:615.099.08

М. Ya. Golovenko¹, I. Yu. Borysyuk¹, O. V. Karpova¹, A. P. Vorozhbyt² AN EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE PREVENTIVE EFFECT OF ALCODEZ ON ETHANOL-INDUCED IMPAIRMENT OF LEARNING IN WHITE RATS

¹ A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the NAS of Ukraine, Odessa, Ukraine,

² SI "Institute of Pharmacology and Toxicology, NAMS of Ukraine", Kiev, Ukraine

An intensive search for effective drugs for the prevention of cognitive deficit caused by acute alcohol intoxication is carried out today. The aim of this work is to study the preventive effectiveness of alcodez on ethanole-induced reduction of training in experimental animals.

To model the severe neurotoxicity of ethanol, animals were injected intraperitoneally ethanol solution (6 g/kg). To study the effect of the compound to training, the first group of animals was injected ethanol 1 hr before training, the second group of animals was injected metadoxin (intraperitoneally at a dose of 200 mg/kg) 1 hr before ethanol administration. To study the consolidation of memory engrams the first group animals were administered ethanol immediately after the training, the second experimental group of animals were injected metadoxin 1 hr before training and ethanol was administered after training.

Animal education and consolidation of memory traces were evaluated by the URPI method in a double-chamber unit of Ugo Basile production with automatic recording of time spent in the light and dark compartments of the appliance.



Under normal conditions the rate of learning in the control group is good enough. With acute ethanol intoxication it was observed violation of unconditional reflex activity and training animals. The latent period of transition into the dark compartment in animals poisoned with ethanol doubles. Alkodez prevents negative effects of ethanol on animals training.

Alkodez shows some activating effect, which manifests itself in increase the physical activity of animals and increase their vertical supports. However, activation caused by this compound does not affect the formation of a conditioned reflex, on the contrary, it facilitates the formation of an active animal response to the conditioned stimulus.

Ethanol has no effect on the consolidation of memory traces in white rats. In this regard, it is impossible to determine the pharmacological effect of alkodez to consolidate memory engrams in rats poisoned with ethanol.

Thus, alkodez can regulate not only the normal processes of memory, but also act as a corrector in the case of reverse functional impairment with a stress factor.

Key words: metadoxine, ethanol, training, preventive effect.

Алкодез (метадоксин) є сіллю піридоксину і піроглутамінової кислоти, що беруть участь в енергетичному метаболізмі та у підтримці гомеостазу головного мозку, тобто їх дія зумовлена відповідною синергією. Відомо [1], що метадоксин впливає на процеси пам'яті та здатність до навчання.

Піридоксин (одна з трьох форм вітаміну В6) відіграє важливу роль у центральній нервовій системі як кофактор декарбоксилаз, що беруть участь у біосинтезі деяких нейромедіаторів (катехоламінів), які впливають на такі складні види мозкової діяльності, як засвоєння та відтворення отриманої інформації, емоційну стійкість, швидкість мислення [2]. Так, у дослідженнях [3] показано виникнення серйозного когнітивного дефіциту у тварин з дефіцитом вітаміну В6.

Піроглутамінова кислота (РСА) збільшує вивільнення ацетилхоліну і ГАМК у лобно-тім'яній частині кори головного мозку, гальмує вивільнення дофаміну та синхронізує електрокортикограму у морських свинок [4], а також покращує здатність до навчання щурів [5]. У клінічних дослідженнях виявлено, що РСА є ефективною сполукою щодо гальмування алкогольіндукованих порушень пам'яті [6] та у пацієнтів із мультиінфарктною деменцією. У рандомізованому подвійному сліпому дослідженні ефективності РСА було показано [7] покращання також вербальної функції пам'яті у пацієнтів, що мають вікові проблеми пам'яті.

Дозозалежний вплив етанолу на центральну нервову систему, який призводить до зниження когнітивних функцій, є добре вивченим. Для етилового спирту в нервовій тканині тварин і людини відсутні специфічні рецептори, що забезпечують відповідну дію. Він взаємодіє з багатьма компонентами клітин мозку (через позатавтрушньоклітинні рецептори, вторинні посередники рецепторів, ферментні системи), змінюючи роботу медіаторних систем, які беруть участь у регуляції пізнавальних процесів. Так, у роботах [8] встановлено, що прийом алкоголю викликає посилення вивільнення та руйнування норадреналіну, дофаміну. ГАМК-ергічна нейромедіаторна система залежно від стану ЦНС відповідає на введення алкоголю як зниженням, так і підвищенням вмісту ГАМК. Холінергічна нейротрансмітерна система відповідає на алкоголь переважно зниженням синтезу ацетилхоліну, який відіграє найважливішу роль у мнемонічних процесах.

Нині триває інтенсивний пошук ефективних лікарських засобів для профілактики когнітивного дефіциту, викликаного гострою алкогольною інтоксикацією.

Мета нашого дослідження — вивчення профілактичної ефективності алкодезу щодо етаноліндукованого зниження здатності до навчання експериментальних тварин.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведено на білих щурах-самцях масою 180–240 г.

Догляд за тваринами й експериментальні дослідження проводилися згідно з вимогами нормативних документів [9; 10].

На початку досліду визначили, що летальна доза (LD_{95}) 40 % розчину етанолу для щурів становить 12 г/кг. Для моделювання тяжкого ступеня нейротоксичної дії етанолу тваринам дослідних груп вводили розчин етанолу внутрішньошлунково через зонд дозою 6 г/кг. Метадоксин вводили інтраперитонеально дозою 200 мг/кг тваринам однієї з дослідних груп. Доза препарату була розрахована виходячи з того, що для людини застосовують у середньому дозу 1500 мг на добу. Відповідно $1500 \text{ мг} / 75 \text{ кг} = 20 \text{ мг/кг}$ (10-видовий коефіцієнт для гризунів), що становить 200 мг/кг.

Для дослідження впливу метадоксину на здатність до навчання тваринам однієї з дослідних груп вводили етанол за 1 год до навчання, тваринам другої дослідної групи за 1 год до введення етанолу — метадоксин.

Для дослідження консолідації енграм пам'яті тваринам однієї дослідної групи вводили етанол безпосередньо після навчання, тваринам другої дослідної групи вводили метадоксин за 1 год до навчання та відразу після навчання — етанол.

Здатність до навчання тварин і консолідація слідів пам'яті оцінювали за методикою УРПУ в двокамерному апараті виробництва Ugo Bazile з автоматичною реєстрацією часу перебування інтактних і дослідних тварин у світлих і темних



Таблиця 1

Вплив метадоксину (200 мг/кг) на здатність до навчання у білих щурів, отруєних етанолом (6 г/кг)

Умови досліджу	n	ЛП до навчання, с	ЛП після навчання, с	% навчених тварин
Контроль	10	4,9±1,2	10,2±16,8	90
Етанол, 6 г/кг	9	10,2±1,9	39,3±8,7	44
Алкодез (200 мг/кг) + етанол (6 г/кг)	8	3,7±0,4*	92,8±0*	87*

Примітка. * — різниця вірогідна порівняно з дослідною групою (етанол).

відсіках приладу [11]. Для оцінки консолідації пам'яті тестування УРПУ здійснювалося через 24 год після навчання тварин.

Розрахунки оброблено за допомогою статистичного пакета програм MS Excel. Отримані результати піддавали статистичному аналізу з використанням t-критерію Стьюдента. Достовірність результатів розраховували при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

У нормальних умовах, за відсутності будь-яких несприятливих впливів, показник навчання у контрольній групі досить високий. У даному разі це пов'язано з тим, що практично всі тварини добре навчаються. Однак у тесті УРПУ позитивна дія ноотропного агента краще проявляється не в нормальних умовах, а при слабкому режимі підкріплення або на фоні амнезії різного генезу [12; 13]. При цьому позитивний ефект ноотропів найбільше проявляється на початкових фазах вироблення умовного рефлексу — стадії нагромадження нової інформації [14].

Так, проведені досліді показали, що при гострій інтоксикації етанолом спостерігається порушення безумовної рефлексорної діяльності та навчання тварин (табл. 1). Латентний період (ЛП) переходу у темний відсік до навчання у тварин, отруєних етанолом, збільшується вдвічі ($p < 0,05$). Кількість тварин, які виконували УРПУ при інтоксикації етанолом, зни-

жується вдвічі ($p < 0,05$). При введенні алкодезу (200 мг/кг) за 1 год до отруєння етанолом (6 г/кг) були отримані результати, які свідчать, що сполука запобігає негативному впливу етанолу на процес навчання тварин. При цьому здатність до навчання щурів дослідної групи, з попереднім введенням алкодезу, досягала рівня даного показника в інтактній групі тварин (рис. 1).

Можна припустити, що одним із факторів, який зумовлює позитивний вплив алкодезу на початкові етапи вироблення умовного рефлексу, є його активуюча дія. Про наявність у цієї речовини деякої активуючої дії свідчить незначне підвищення рухової активності тварин порівняно з контролем. Крім того, у цих тварин спостерігалось більше вертикальних стійок, що може розглядатися як корелят більшої дослідницької активності. Однак активація, спричинена цією сполукою, не порушує формування умовного рефлексу, а, навпаки, полегшує тваринам формування активної реакції на умовний стимул. Підтвердження цьому — більш швид-

% навчених тварин

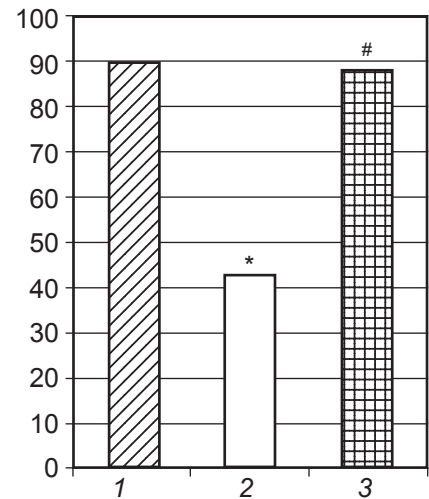


Рис. 1. Вплив метадоксину (200 мг/кг) на здатність до навчання у білих щурів, отруєних етанолом (6 г/кг): 1 — контроль; 2 — етанол (6 г/кг); 3 — метадоксин (200 мг/кг) + етанол (6 г/кг); * — достовірна різниця щодо контролю; # — достовірна різниця порівняно з дослідною групою (етанол)

ке зменшення у дослідних групах кількості випадків відсутності переходів в іншу половину камери на звук і струм.

Згідно з отриманими результатами, етанол дозою 6 г/кг не впливає на консолідацію слідів пам'яті у білих щурів (табл. 2). У зв'язку з цим неможливо визначити фармакологічний вплив алкодезу на консолідацію енграм пам'яті у щурів, отруєних етанолом. Показники консолідації пам'яті в контрольній і дослідних групах були приблизно однаковими.

Отже, показано, що алкодез (200 мг/кг), введений за 1 год до введення етанолу (6 г/кг), запобігає порушенням безумовної рефлексорної діяльності

Таблиця 2

Вплив метадоксину на консолідацію енграм пам'яті у білих щурів, отруєних етанолом, n=10

Умови досліджу	Через 24 год після навчання	
	Латентний період, с	% навчених тварин
Контроль	169,7±12,6	90
Етанол, 6 г/кг	146,0±9,3	80
Алкодез (200 мг/кг) + етанол (6 г/кг)	162,4±7,5	90



та здатності до навчання тварин внаслідок тяжкого ступеня нейротоксичної дії етанолу.

Таким чином, проведені експериментальні дослідження продемонстрували, що алкодез може регулювати процеси пам'яті не тільки в нормі, але й коригувати у разі оборотного функціонального порушення їх стресовим чинником.

ЛІТЕРАТУРА

1. A follow up study on the efficacy of metadoxine in the treatment of alcohol dependence / I. Guerrini, C. Gentili, G. Nelli, M. Guazzelli // Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy. – 2006. – Vol. 1, N 35. – P. 1–5.

2. Effect of metadoxine on striatal dopamine levels in C57 black mice / F. Fornai, M. Grazia Alessandri, U. Bonuccelli [et al.] // J Pharm Pharmacol. – 1993. – Vol. 45. – P. 476–478.

3. Wei I. L. Vitamin B6 deficiency decreases the glucose utilization in cognitive brain structures of rats / I. L. Wei, Y. H. Huang, G. S. Wang // J. Nutr. Biochem. – 1999. – Vol. 10. – P. 525–531.

4. Pyroglutamic acid administration modifies the electrocorticogram and increases the release of acetylcholine and GABA from the guinea-pig cerebral cortex / T. Antonelli, V. Carla, L. Lambertini [et al.] // Pharmacol Res Commun. – 1984. – Vol. 16. – P. 189–197.

5. Effects of pyroglutamic acid on learning and memory processes in rats / F. Drago, G. Continella, C. Valerio [et al.] // Acta Ther. – 1987. – Vol. 13. – P. 587–593.

6. Sulla Reversibilita Dei Disordini Cognitivi Negli Alcolisti Cronici In Fase Di Dissaudefazion / E. Sinforiani, M. Trucco, A. Cavallini [et al.] // Minerva Psichiatrica. – 1985. – Vol. 26. – P. 339–342.

7. Pyroglutamic acid improves the age associated memory impairment / S. Grioli, C. Lomeo, M. Quattropani [et al.] // Clin. Pharmacol. – 1990. – Vol. 4. – P. 169–173.

8. Анохина И. П. Роль нарушений функций катехоламиновой системы мозга в патогенезе хронического алкоголизма / И. П. Анохина, Б. М. Коган // Журнал невропатологии и психиатрии. – 1975. – Т. 75. – С. 1874–1883.

9. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, М. А. Сайфетдінова. – К. : Авіценна, 2002. – 156 с.

10. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. А. В. Стефанова. – К. : Видав. дім «Авіценна», 2002. – 527 с.

11. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 385 с.

12. Завалишин И. А. Оксидантный стресс — общий механизм повреждения при заболеваниях центральной нервной системы / И. А. Завалишин, М. Н. Захарова // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 1996. – № 2. – С. 111–114.

13. Селанк и короткие пептиды семейства тафтсина в регуляции адаптивного поведения при стрессе / М. М. Козловская, И. И. Козловский, Е. А. Вальдман, С. Б. Середенин // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2002. – Т. 88, № 6. – С. 751–761.

14. Беленичев И. Ф. Ноотропная терапия: прошлое, настоящее, будущее / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, В. Р. Стец // Новости медицины и фармации. – 2004. – № 26. – С. 34–41.

REFERENCES

1. Guerrini I., Gentili C., Nelli G., Guazzelli M. A follow up study on the efficacy of metadoxine in the treatment of alcohol dependence. *Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy* 2006; 1, 35: 1-5.

2. Fornai F., Grazia Alessandri M., Bonuccelli U., Scalori V., Corsini G.U. Effect of metadoxine on striatal dopamine levels in C57 black mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 1993; 45: 476-478.

3. Wei I.L., Huang Y.H., Wang G.S. Vitamin B6 deficiency decreases the glucose utilization in cognitive brain structures of rats. *J. Nutr. Biochem.* 1999; 10: 525-531.

4. Antonelli T., Carla V., Lambertini L., Moroni F., Bianchi C. Pyroglutamic acid administration modifies the electrocorticogram and increases the release of acetylcholine and GABA from the guinea-pig cerebral cortex. *Pharmacol Res Commun.* 1984; 16: 189-197.

5. Drago F., Continella G., Valerio C., D'Agata V., Astuto C., Spadaro F., Scapagnini U. Effects of pyroglutamic acid on learning and memory processes in rats. *Acta Ther.* 1987; 13: 587-593.

6. Sinforiani E., Trucco M., Cavallini A., Gualtieri S., Verri A.P., Spignoli G. Sulla reversibilita dei disordini cognitivi negli alcolisti cronici in fase di dissauefazion. *Minerva Psichiatrica* 1985; 26: 339-42.

7. Grioli S., Lomeo C., Quattropani M., Spignoli G., Villardita C. Pyroglutamic acid improves the age associated memory impairment. *Clin. Pharmacol.* 1990; 4: 169-173.

8. Anokhina I.P., Kogan B.M. The role of disorders of the brain catecholamine system in the pathogenesis of chronic alcoholism. *J. nevropatologii i psyhiatrii* 1975; 75: 1874-1883.

9. Cozhemyakin Yu.M., Chromov O.S., Filonenko M.A., Sayfetdinova M.A. Scientific and practical advice on the maintenance of laboratory animals. Kyiv, Avicena, 2002: 156.

10. Preclinical studies of drugs. Guidelines. Ed. A.V. Stefanov. Kyiv, Avicena, 2002: 527.

11. Buresh Ya., Bureshova O., Hyuston D.P. Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior. Moscow, Vysshaya shcola, 1991: 385.

12. Zavalishin I.A., Zakharova M.N. Oxidative stress — a common mechanism of injury in diseases of the central nervous system. *J. nevrologii i psyhiatrii im. S.S. Korsakova* 1996; 2: 111-114.

13. Kozlovskaya M.M., Kozlovskiy I.I., Valdman E.A., Seredenin S.B. Sеланк and short peptides taftsina family in the regulation of adaptive behavior under stress. *Ros. Fisiol. J. im. I.M. Sechenova* 2002; 88, 6: 751-761.

14. Belenichev I.F., Mazur I.A., Stec V.R. Nootropic therapy: past, present, future. *Novosti mediciny i farmaciy* 2004; 26: 34-41.

Надійшла 12.10.2012

