

І.Ф.Бєленічев, О.П.Соколик

## Експериментальна фармакокорекція порушень поведінки нейропептидними ноотропами в умовах 30-денної алкоголізації

Запорізький державний медичний університет

*Ключові слова: нейрони, алкоголізація, нейропротекція, цереброкурин*

Високий рівень вживання алкогольних напоїв, збільшення числа хворих алкоголізмом, негативний вплив зловживанням алкоголем на здоров'я населення висунули проблему алкоголізму в перелік важливих захворювань, що мають медичне, соціальне та біологічне значення [5–7, 14, 15].

Недосконалість лікарської терапії адиктивних порушень робить необхідним пошук і розробку нових, більш ефективних фармакологічних засобів профілактики та лікування адикцій. Представляється ефективним використання препаратів, що мають особливі нейропротекторні властивості, діють на основні біологічні процеси в організмі та суттєво підвищують якість лікування хворих. В цьому відношенні інтерес представляють препарати, отримані з мозку ембріонів великої рогатої худоби, що мають в своєму складі амінокислоти, нейропептиди, ростові фактори – цереброкурин, церебролізин, кортексин [2, 3, 9–13].

*Мета дослідження* – вивчення впливу цереброкурину, церебролізину та кортексину на поведінку та пам'ять щурів в умовах хронічної насильної алкоголізації.

*Матеріали та методи.* У досліджах використовували 50 білих безпорідних щурів-самців з масою тіла 180–220 г та віком 4,5 місяців, які утримувалися у віварії при вільному доступу до їжі (стандартний гранульований корм) та води, отриманих з розплідника ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України». Всі експериментальні процедури здійснювали згідно із «Положенням про використання тварин в біомедичних

дослідженнях». Хронічний алкоголізм викликали щоденним внутрішньошлунковим введенням протягом перших 10 днів – 15 % розчину етанолу в дозі 4 г/кг, наступні 10 днів – 15 % розчину етанолу в дозі 6 г/кг і останні 10 днів щурам вводили 25 % розчин етанолу [8]. Із 30 доби припиняли алкоголізацію, та проводили експериментальну терапію протягом 14 діб.

Всіх щурів було розділено на 5 груп:

- 1 група отримувала протягом 30 днів етанол та з 31 по 44 добу цереброкурин в дозі 0,01мл/кг;
- 2 група отримувала протягом 30 днів етанол та з 31 по 44 добу церебролізин в дозі 1мл/кг;
- 3 група отримувала протягом 30 днів етанол та з 31 по 44 добу кортексин в дозі 0,01мл/кг;
- 4 група отримувала протягом 30 днів етанол (контроль);
- 5 група-інтактна (замість етанолу – фізіологічний розчин).

Щоденно кожному щуру проводили оцінку неврологічного статусу згідно зі шкалою stroke-index по McGrow.

Порушення орієнтувально-пошукової діяльності тварин вивчали в тесті «відкрите поле».

Когнітивні функції тварин оцінювали по здатності до запам'ятовування аверсивного стимулу в тесті умовної реакції пасивного побігання (УРПП) на 44 добу. Збереження когнітивних функцій оцінювали по здатності тварин до навчання та запам'ятовування аверсивного стимулу в тесті умовної реакції пасивного побігання (УРПП). Ця методика основана на вродженому прагненні щурів до замкнутого затемненого простору. Навчання щурів проводили в установці, яка складається з двох відсіків – світлого та темного. Щурів розміщували в світлому відсіці, фіксували латентний

час заходу в темний відсік, де щури отримували удар током та вибігали в світлий відсік. Про збереження навиків судили по зміні латентного часу заходу щурів в темний відсік.

Статистичну обробку результатів проводили методами математичної статистики із застосуванням пакетів прикладних програм «Біостатистика для Windows, версія 4.03» і «Microsoft Excel 2002». Для кожної досліджуваної ознаки визначали показники середнього арифметичного ( $M$ ) і стандартної помилки середнього арифметичного ( $m$ ). Нормальність розподілу перевіряли з використанням тесту Колмогорова-Смирнова. Статистичну обробку даних здійснювали з використанням  $t$ -критерію Ст'юдента. Достовірними вважали відмінності з рівнем значущості більше 95 % ( $P < 0,05$ ).

**Результати та їх обговорення.** Встановлено, що алкоголізація тварин супроводжується наступними ознаками неврологічних порушень: ригідністю хвоста, гіперемією шкірних покривів, хаотичними рухами тварин в клітці, які змінюються в'ялістю, пасивністю щурів, зменшенням рухової активності, тривалим перебуванням тварин в лежачому положенні, неспроможністю триматися на стрижні, що обертається протягом 3 хвилин.

Проведена оцінка неврологічного статусу згідно шкали stroke-index по McGrow (рис. 1, 2) показала негативну динаміку від початку хронічної алкоголізації до початку лікування в вигляді тремору, тривожності, конфліктності, агресивності, гіперактивності, в подальшому, в'ялості рухів, апатії, дискоординації рухів, пасивного перебування тварин в лежачому положенні, розвитку тонічних та клонічних судом, птозу. З 2 доби у всіх щурів, що отримували етанол, зафіксовано 1–2 бали по шкалі McGrow, поступово спостерігалось наростання балів від 1–2 до 4–5 протягом 14 днів насильної алкоголізації, з 14 по 21 добу відмічено 4–6 балів, з 21 по 30 добу – зафіксований максимум 6–7 балів.

Необхідно відзначити, що в контрольній групі відміна етанолу не призводила до регресу неврологічного дефіциту протягом послідуєчих 14 діб.

З початком лікування відмічається позитивна динаміка з регресом неврологічної симптоматики в групах тварин, які отримували цереброкурин, церебролізин та кортексин. Серед досліджуваних препаратів, найбільш активним виявився цереброкурин, зменшуючи прояви неврологічної симптоматики вже з перших 3 днів лікування від 6–7 до 1–2 балів по McGrow. На фоні прийому цереброкурину у тварин значно зменшилися прояви неврологічних порушень: тремор, ригідність хвоста, хаотичні рухи в клітці, птоз, гіперактивність, судомні скорочення м'язів з перших днів прийому на відміну від інших препаратів. Поряд з цим цереброкурин виявив значний седативний вплив на тварин порівняно з іншими групами (зниження проявів гіперактивності, агресивності). Церебролізин та кортексин показали регрес неврологічної симптоматики протягом 7 днів від 6–7 до 1–2 балів по McGrow.

З 7 по 14 день лікування неврологічна симптоматика практично повністю регресувала в групі тварин, які отримували цереброкурин. Щури, яким проводили лікування церебролізином та кортексином, з 7 по 14 день мали 1–2 бали по McGrow.

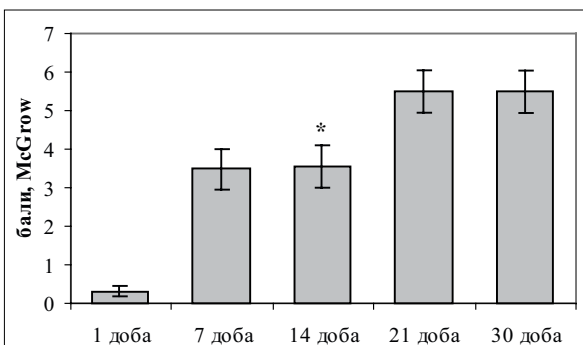
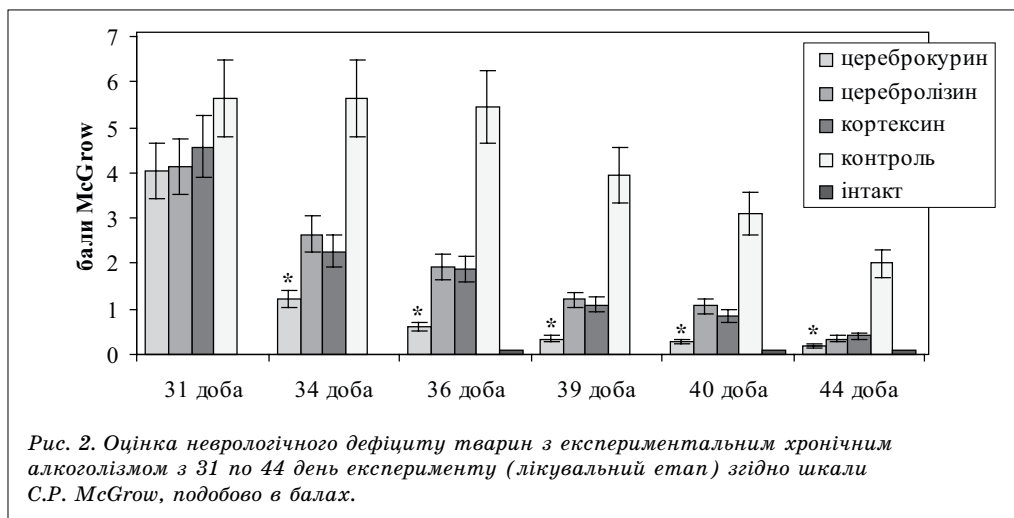


Рис. 1. Оцінка неврологічного дефіциту тварин з експериментальним хронічним алкоголізмом з 1 по 30 день алкоголізації згідно шкали С.Р. McGrow, подово в балах(група контролю).

Примітка. Тут та на рис. 2: \*  $P \leq 0,05$  відносно контролю.



У тварин також пригнічувалася орієнтувально-пошукова активність, спостерігався розвиток когнітивного дефіциту (починаючи з 3 доби достовірно та зберігався протягом всього періоду алкоголізації). Так, у тварин, які вживали етанол протягом 30 днів, знижувалася кількість горизонтальних та вертикальних переміщень, кількість заглядань в отвори. Треба відзначити,

що подібні порушення в поведінці зберігалися і протягом 14 днів після відміни прийому алкоголю (табл. 1).

В результаті проведеного лікування тварин з алкоголізмом спостерігалася покращення орієнтувально-пошукової активності, що виражалася у збільшенні кількості горизонтальних та вертикальних рухів, грумінгу та дослідженні отворів.

Таблиця 1

Оцінка орієнтувально-досліджувальної активності тварин з експериментальним хронічним алкоголізмом в різні строки

Групи тварин (по 10 щурів кожна група)	Кількість горизонтальних рухів	Кількість вертикальних рухів	Грумінг	Дослідження отворів	Дефекація
<b>30 доба</b>					
Цереброкурин	15,07±2,04	8,40±1,49	3,50±0,56	3,40±0,49	0,20±0,13
Церебролизин	16,80±1,98	8,00±0,74	2,20±0,51	2,40±0,37	0,10±0,1
Кортексин	16,50±1,49	8,10±1,17	2,90±0,48	3,50±0,63	0,20±0,13
Контроль (хронічна алкоголізація)	16,55±1,62	9,33±1,64	2,33±0,64	2,66±0,52	0,11±0,11
Інтакт	58,00±3,39	24,50±0,92	6,30±1,07	8,90±0,37	0,10±0,1
<b>44 доба</b>					
Цереброкурин	63,10±5,32□	19,00±1,21□	6,10±0,58□	8,9±0,9□	0,1±0,1
Церебролизин	39,90±5,46*	13,30±1,88*	3,20±0,44	3,5±0,4	0,1±0,1
Кортексин	42,70±4,69	14,70±0,93	4,40±0,71*	4,50±0,47*	0
Контроль (хронічна алкоголізація)	12,11±1,73	5,77±0,93	2,12±0,39	2,66±0,4	0,11±0,11
Інтакт	64,00±3,53	21,10±2,39	6,70±1,07	10,20±0,72	0,30±0,15

Примітка. Тут та в табл. 2: □ P ≤ 0,05 відносно церебролизину; \* P ≤ 0,05 відносно контролю.

Введення цереброкуруину показало на 14 день лікування збільшення кількості горизонтальних рухів (в чотири рази), вертикальної активності та дослідження отворів (в 2,5 разів), грумінгу (в 2 рази) в порівнянні з 30 днем алкоголізації (достовірно по відношенню до церебролізину). Церебролізін та кортексин, які вводились по тій же схемі, показали збільшення кількості горизонтальних рухів (в 2,5 разів), вертикальної активності, грумінгу та дослідження отворів (в 0,7 разів) в порівнянні з групою тварин, які не отримували лікування ( $P \leq 0,05$ ).

Після 30-денної алкоголізації у щурів спостерігалось зменшення латентного періоду заходу в темний відсік навіть на 14 добу після відміни етанолу, що може свідчити про пригнічення процесів навчання та пам'яті (табл. 2).

Після проведеного лікування в групі тварин, що отримували цереброкуруин, відмічається значне збільшення латентного періоду заходу в темний відсік (достовірно по відношенню до контролю), який майже наблизився до інтакту. Церебролізін та кортексин також показали збільшення латентного періоду заходу в темний відсік, але майже вдвічі менше порівняно з цереброкуруином. Ми отримали результати досліджень, які переконливо показують значну нейропротективну активність цереброкуруину в порівнянні з іншими нейропептидними препаратами в умовах зформованого алкоголізму. Нейропротективна дія цереброкуруину реалізовувалася зменшенням неврологічних порушень та нормалізацією когнітивних функцій. Отримані нами дані узгоджуються з

нашими попередніми дослідженнями. Так, цереброкуруин призводить до нормалізації генів раннього реагування, а також впливає на глобальний чинник транскрипції AP-1, який відповідальний за синтез супероксиддисмутази і каталази, інгібує розвиток мітохондріальної дисфункції, що протікає на тлі відновлення соматичних порушень [16, 17].

Механізм дії і точки прикладення цереброкуруину принципово відрізняються від інших препаратів нейропептидної природи, зокрема, від церебролізину. Цереброкуруин містить пептиди, що несуть в собі програму аналізу стану і будівництва ЦНС. Таким чином, кінцевий ефект відрізняється через якісно відмінний механізм дії. Захисні ефекти цереброкуруину на тканину мозку включають його оптимізуючу дію на енергетичний метаболізм мозку і гомеостаз кальцію, стимуляцію внутріклітинного синтезу білка, уповільнення процесів глутамат-кальцієвого каскаду і перекисного окислення ліпідів. Разом з тим препарат має виражені нейротрофічні ефекти [18]. У дослідженнях, проведених останніми роками, встановлена здатність цереброкуруину підвищувати експресію гена транспортера глюкози (Glut-1) через гематоенцефалічний бар'єр і, таким чином збільшувати її транспорт до головного мозку. Показано також, що нейротрофічні властивості цереброкуруину пов'язані із захистом цитоскелета нейронів унаслідок інгібування кальційзалежних протеаз, зокрема, кальпаїна, і збільшення експресії мікротубулярного кислого протеїну-2 (MAP2). Разом з

Таблиця 2

*Тест умовної реакції пасивного побігання на 44 добу експерименту, час в секундах*

Група тварин (по 10 щурів кожна група)	Латентний період в тесті УРПП до навчання, с	Латентний період в тесті УРПП через 24 години після навчання, с	Кількість навчених тварин, %
Цереброкуруин	4,70±0,63*±	164,70±4,24*±	100
Церебролізін	4,100±0,406*	85,30±8,48*	50
Кортексин	6,50±0,34*±	102,00±11,71*±	80
Контроль (хронічна алкоголізація)	7,11±0,35	36,11±3,04	30
Інтакт	9,88±1,08	172,20±2,76	100

цим цереброкурин збільшує афінність зв'язування BDNF з його рецепторами [19]. Вплив препарату на *trk*-В-рецептори нейротрофінів може свідчити про залучення його до регуляції природних чинників росту. В експериментальних дослідженнях виявлена здатність цереброкуруину запобігати гіперактивації мікроглії і знижувати продукцію ІЛ-1 та інших прозапальних цитокінів, що відображає вплив препарату на вираженість місцевої запальної реакції і процесів оксидантного стресу [20, 21].

## Висновки

1. Насильна алкоголізація щурів супроводжувалася ознаками алкогольної інтоксикації та появою негативної неврологічної симптоматики при оцінці неврологічного статусу згідно шкали *stroke-index* по McGrow, зниженням орієнтувально-пошукової активності в процедурі тестування «відкрите поле» та зменшенням латентного періоду заходу в темний відсік в тесті УРПП.
2. Курсове застосування цереброкуруину, церебролізину та кортексину призводило до значного регресу негативної неврологічної симптоматики, що виникла при алкоголізації щурів по активізації орієнтувально-пошукової активності в процедурі тестування «відкрите поле» та збільшенню латентного періоду заходу в темний відсік в тесті УРПП вже з перших днів лікування для цереброкуруину, та протягом першого тижня лікування для церебролізину та кортексину.
3. Цереброкурин по відношенню до церебролізину та кортексину був вдвічі ефективніший за результатами тестування в процедурі «відкрите поле» та даними тривалості латентного періоду в тесті УРПП, проявивши суттєвий антиамнестичний ефект.
4. Отримані результати дозволять рекомендувати цереброкурин до схеми лікування хворих на хронічний алкоголізм у зв'язку з високою нейротропною активністю.

1. Науково-практичні рекомендації по утриманню лабораторних тварин і роботі с ними / Кожем'якин Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдинова Г.А. – Київ, 2002.
2. Фармакотерапія в неврології – практичні рекомендації / В.Н. Шток. – 2003.
3. Фармакотерапія в неврології та психіатрії / С.Д. Енн. – 2007. – С. 34.
4. Хабрієв Р.У. Рекомендації по експериментальному (доклінічному) вивченню нових фармакологічних речовин / Р. У. Хабрієв. – Москва, 2005.
5. Яхно М.М. Хвороби нервової системи, том 2 / М.М. Яхно, Д.Р. Штульман. – 2001. – 743 с.
6. Bozarth M.A., Wise R.A. // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 1983. – V. 7, № 4–6. – P. 569–575.
7. Diana M., Muntoni A.L., Pistis M. *Et al.* // *Eur. J. Neurosci.* – 1999. – V. 11, № 3. – P. 1037–1041.
8. Diana M., Pistis M., Muntoni A., Gessa G. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1995. – V. 272, № 2. – P. 781–785.
9. *Fundamentals of neurology.* Mark Mumenthaler, 2006.
10. Honkanen A., Piepponen T.P., Ahtee L. // *Neurosci. Lett.* – 1994. – V. 180, № 2. – P. 119–122.
11. Koob G.F., Le Moal M. // *Neuropsychopharmacology.* – 2001. – V. 24, № 2. – P. 97–129.
12. Robinson T.E., Berridge K.C. // *Annu. Rev. Psychol.* – 2003. – V. 54. – P. 25–53.
13. Van Ree J.M., Gerrits M.A.F.M., Vanderschuren L.J.M.J. // *Pharmacol. Rev.* – 1999. – V. 51. – № 2. – P. 341–396.
14. Wise R.A., Bozarth M.A. // *Psychiatr. Med.* – 1985. – V. 3. – № 4. – P. 445–460.
15. White F.J. // *J. Neurosci.* – 2002. – V. 22, № 9. – P. 3303–3305.
16. Мітохондріальна дисфункція при церебральній патології. Нейропротекція Цереброкуруином / [Беленичев І.Ф., Колесник Ю.М., Павлов С.В. та ін.] // Міжнародний неврологічний журнал. – 2008. – № 4 (20). – С. 23–29.
17. Закономірності формування і реалізації індивідуального досвіду / [Олександров Ю.І., Греченко Т.Н., Гаврилов В.В. та ін.] // ЖВНД. – 1997. – Т. 1, № 2. – С. 34–45.
18. Беленичев І.Ф. Роль гена раннього реагування *c-fos* в нормі і при нейродеструктивній токсичній патології. Можливості фармакокорекції нейропептидними лікарськими засобами / Беленичев І.Ф., Левицький Е.Л., Павлов С.В. // Суч. пробл. токсикол. – 2008. – № 1. – С. 17–27.
19. Матеріали експериментальних і клінічних випробувань препарату «Цереброкурин®» / [Єна Л.М., Кузнецова С.М., Кузнецов В.Н. та ін.] // Київ, 1997. – 115 с.

- 
20. Сергієнко А.Н. Застосування препарату «Цереброкурин®» при лікуванні дегенеративно-дистрофічних захворювань сітківки // Новини медицини та фармації.– 2001.– № 12 (97).– С. 8.
21. Євтушенко С.К. Діагностика та лікування мовних порушень у дітей з психічної та неврологічної патологією / [Євтушенко С.К. Дубовцева О.А.] // Журнал неврології та психіатрії ім. С. Корсакова.– 2001.– № 7.– С. 62–65.

**И.Ф. Беленичев, О.П. Соколик**

**Экспериментальная фармакокоррекция нарушений поведения нейропептидными ноотропами в условиях 30-дневной алкоголизации**

В статье освещены результаты экспериментальной алкоголизации крыс 15 % этиловым спиртом с последующим 2-недельным курсом лечения крыс цереброкурином, церебролизином, кортексином. Приведены данные о преимуществе использования цереброкурина по сравнению с церебролизином и кортексином.

*Ключевые слова: нейроны, алкоголизация, нейропротекция, цереброкурин*

**I.F. Belenichev, E.P. Sokolik**

**Experimental farmacocorection of dysbehaviour by nootropic neuropeptides in the alcoholization during 30 days**

The results of experimental alcoholism of rats by 15 % ethyl alcohol with subsequent 2 week's course of treatment of the rats by cerebrokurin, cerebrolyzin, korteksin are given in the article. The data of an efficiency of the cerebrokurin as compared with the cerebrolysin and to the korteksin are given in the article.

*Key words: neurons, alcoholization, neuroprotection, cerebrokurin*

---

*Надійшла: 23.09.2009 р.*

**Контактна особа:** Беленічев І.Ф., проф., д. біол. наук, завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури, Запорізький Державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, т. (612) 342-741.