

УДК 615.213'453.6.015

Бєленічев І. Ф., Кучеренко Л. І., Німенко Г. Р., Кузьо Н. В.
Запорізький державний медичний університет
НВО «Фарматрон»

Порівняльна оцінка впливу на вищі функції центральної нервової системи карбамазепіну і таблеток «Карбатрил»

Метою дослідження є порівняльна оцінка впливу карбамазепіну і таблеток «Карбатрил» на вищі функції центральної нервової системи (ЦНС) за такими показниками, як референтна і робоча пам'ять, а також рухова і пошукова активність.

Дослідження проведене на 20 щурах лінії Wistar віком 6 місяців, масою 220-290 г. Використовували радіальний лабіринт LE760, методику «Відкрите поле», кольорову відеокамеру SSC-DC378P, Microsoft Excel 2016 з пакетом статистичної обробки AtteStat 12.

У процесі дослідження експериментальним тваринам вводили карбамазепін у середній терапевтичній дозі, що призводить до достовірного зниження когнітивних функцій ЦНС, погіршення мнестичних функцій ЦНС, появи ознак високої тривожності тварин. При цьому аналогічне введення «Карбатрилу» не викликає подібних змін ЦНС і призводить до зниження цих показників проти показників групи контролю.

У результаті проведеного експерименту зроблено висновок, що «Карбатрил» не чинить негативного впливу на вищі функції ЦНС, на відміну від карбамазепіну.

Ключові слова: таблетки «Карбатрил», референтна і робоча пам'ять, рухова і пошукова активність.

Епілепсія є одним з найбільш поширених захворювань нервової системи. Захворюваність на епілепсію становить 50-70/100000 людей, поширеність 5-10/1000 людей. Не менше одного нападу протягом життя переносять 5 % населення, у 20-30 % хворих на епілепсію вона є довічною. У 1/3 випадків причина смерті хворих на епілепсію пов'язана з нападом або епілептичним статусом. Це захворювання супроводжується значними соціальними обмеженнями, моральними і фізичними стражданнями хворого і членів його сім'ї. Велика кількість форм епілепсії, різноманіття дії різних протисудомних препаратів, особливості їх ефектів при різних формах епілепсії створюють істотні труднощі у виборі правильної тактики лікування хворих навіть для досвідченого лікаря-епілептолога, а тим більше для невролога і лікаря загальної практики. Ці труднощі очевидні, хоча б з даних статистичного аналізу вибіркового суцільних популяційних спостережень у різних регіонах України і країн СНД, що дає частку пацієнтів без нападів від загальної кількості тих, що лікуються, у 13-28 %, у той час як при правильній організації лікування вона має становити 50-80 % [1]. Слабка ефективність лікування епілепсії обумовлена, в першу чергу, помилками в діагнозі форми епілепсії та у виборі препарату, ірраціональною політерапією, заниженою дозою препаратів. Зважаючи на напрацьовані експертами Міжнародної протиепілептичної ліги (МПЕЛ) стандарти і рекомендації лікування основних форм фокальної епілепсії препаратом першого вибору є карбамазепін [1]. Як показує клінічна

практика, тривале застосування карбамазепіну викликає ряд побічних реакцій з боку центральної нервової системи (ЦНС), які знижують якість життя пацієнта, — запаморочення, головний біль, депресія, втома, сонливість, пригніченість свідомості, загальмованість мислення, погіршення пам'яті, погане засвоєння нової інформації, порушення мови, збудження, агресивна поведінка, активація психозу, диплопія, шум у вухах, порушення смакових відчуттів, мимовільні рухи, м'язова слабкість, зниження працездатності [2, 3].

Вирішенням цієї проблеми є створення нового більш ефективного протиепілептичного препарату «Карбатрил», який має виражені антидепресивні, ноотропні, нейропротективні й антиоксидантні властивості, на основі фіксованої комбінації карбамазепіну з тіотриазолоном у співвідношенні 1.5:1 [4].

Позитивним моментом комбінованого застосування тіотриазоліну при епілепсії є його здатність активувати пластичні процеси в ЦНС (конвульсії викликають апоптоз), посилювати інтеграційні механізми мозку [5, 6]. Саме комбінація карбамазепіну з одним із кращих антиоксидантних препаратів сучасності — тіотриазолоном — призвела не тільки до зменшення, а й до нівелювання деяких побічних ефектів, а також дозволила розширити сферу застосування таблеток «Карбатрил».

Метою нашого дослідження є порівняльна оцінка впливу карбамазепіну і таблеток «Карбатрил» на вищі функції ЦНС за такими показниками, як референтна і робоча пам'ять, а також рухова і пошукова активність.

*Матеріали і методи дослідження*Тварини

Дослідження було проведено відповідно до Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту і Ради від 22 вересня 2010 року про захист тварин, що використовуються для наукових цілей, а також відповідно до національного документа «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Україна, 2001) і вказівок, викладених у збірнику «Основні засади вивчення токсичності потенційних фармакологічних препаратів» (Державний фармакологічний центр України, Київ, 2000). Проведення експерименту було схвалено Комісією з біоетики Запорізького державного медичного університету.

Дослідження проведено на 20 щурах лінії Wistar віком 6 місяців, масою 220-290 г. Тварини утримувались у стандартних умовах віварію (12-годинний світловий цикл, температура — 22 °C). Для проведення експериментів тварин піддавали харчовій депривації, особливості якої описані нижче. З метою приручення щурів перед початком експерименту тримали в руках по 2-3 хв протягом 5 днів, що полегшувало подальші експериментальні дослідження.

Тварини були розділені на 4 групи: 1) 5 тварин — інтакт; 2) 5 тварин, яким проводилося внутрішньошлункове зондове введення дистильованої води (розчинник) обсягом 1 мл; 3) 5 тварин, яким проводилося внутрішньошлункове зондове введення таблеток карбамазепіну в терапевтичній дозі 75 мг/кг [7], у перерахунку на субстанцію, на 1 % крохмальному слизі (1 мл); 4) 5 тварин, яким проводилося внутрішньошлункове зондове введення таблеток комбінованого препарату «Карбатрил» (150 мг карбамазепіну і 100 мг тіотриазоліну) в дозі 150 мг/кг (75 мг/кг у перерахунку на субстанцію карбамазепіну) на 1 % крохмальному слизі (1 мл). Введення проводилося один раз на добу о 10:00 в умовах віварію протягом 10 днів.

Оцінка референтної і робочої пам'яті

Щурів піддавали харчовій депривації. Їжа була доступною щодня протягом 1 години. Тварин доводили до 85 % початкової маси шляхом обмеження їжі з вільним доступом до води.

Дослідження пам'яті проводили за допомогою радіального лабіринту LE760 (AgnTho's, Sweden), як зазначено у [7]. Восьмипромене-вий радіальний лабіринт складається з восьмикутної платформи (довжина сторони — 22 см), від якої відходять пронумеровані від 1 до 8 радіальні промені-доріжки довжиною 70 см і шириною 10 см із заглибленнями для годівниць на

кінці (діаметр — 2 см, глибина — 1.5 см). Кожна доріжка може бути закрита за допомогою гільйотинного механізму незалежно одна від одної. Уся установка розташовувалася на висоті 70 см від підлоги. Дослідження проводилося в повній тиші.

Починаючи з першого дня введення препаратів, тварини поміщалися в центральний майданчик лабіринту з 4 закритими променями і 4 відкритими променями, в годівницях яких розміщувалося 200 мг харчових гранул. Комбінація відкритих і закритих променів була індивідуальною і постійною для кожної тварини. Протягом наступних 5 днів тварина навчалася знаходити їжу, використовуючи зовнішні візуальні орієнтири. Навчання проводилося протягом 10 хв або до знаходження твариною всіх чотирьох джерел їжі. Експеримент повторювали щодня, двічі з кожною твариною. Після експерименту тварина отримувала денний раціон їжі. Починаючи з шостого дня введення препаратів, тварини поміщали в радіальний лабіринт з 8 відкритими променями-доріжками, у 4 з яких розміщувалося їжа згідно зі звичною для тварин схемою. Ми оцінювали кількість помилок референтної пам'яті (перше відвідування раніше закритого променя, в якому тварина ніколи не знаходила їжу), а також кількість помилок робочої пам'яті (повторне відвідування променя, в якому тварина раніше знаходила або не знаходила їжу). Крім того, ми оцінювали пройдену відстань, загальну активність, відсоток тривалості низької і високої активності.

Визначення рухової і пошукової активності

Визначення рухової і пошукової активності проводилося за допомогою методики «Відкрите поле» з використанням арили власного виробництва з розмірами 80×80×35 см, як зазначено раніше [8, 9, 10]. Тварини поміщали у середину однієї зі сторін мордою до стінки, після чого їй протягом 8 хв дозволяли вільно переміщатися ареною. Ми оцінювали загальну пройдену відстань, загальну активність, відсоток активності і неактивності, кількість завмирань і входжень у центр, відстань, пройдену біля стінки і в центральній частині арили, вертикальну пошукову активність (кількість стійок на задніх лапах біля стінки і в центрі), кількість подій короткого і довгого грумінгу, кількість актів дефекації й уринації.

Отримання і обробка даних

Дослідження проводилися на базі відділу експериментальної патофізіології та функціональної морфології Навчального медико-лабораторного

центру Запорізького державного медичного університету. Експерименти проводилися в добре освітленій кімнаті у повній тиші. При проведенні експериментів виключали вплив зовнішніх і внутрішніх візуальних, нюхових і слухових стимулів. Оцінка поведінки тварин проводилася лаборантом, який не знав про приналежність тварини до конкретної експериментальної групи. Захоплення і запис зображення проводилися за допомогою кольорової відеокамери SSC-DC378P (Sony, Japan). Аналіз відеофайлу проводився за допомогою програмного забезпечення Smart v 3.0 (Harvard Apparatus, USA). Статистична обробка результатів проводилася за допомогою Microsoft Excel 2016 з пакетом статистичної обробки AtteStat 12. Для оцінки достовірності відмінностей у досліджуваних групах використовувався критерій Краскела-Уолліса з post hoc поправкою Данна. Вірогідними вважалися відмінності при $p < 0.05$.

Результати досліджень та їх обговорення

При аналізі результатів експерименту з радіальним лабіринтом було виявлено, що відстань, пройдена тваринами групи карбамазепіну, достовірно перевищує аналогічний показник контрольної групи на 38 %, у той час як цей показник у групі «Карбатрилу» на 17.4 % достовірно нижчий порівнюючи з показником контрольної групи і на 40.2 % достовірно нижчий за показник тварин групи карбамазепіну. Загальна активність тварин групи карбамазепіну на 7.5 % достовірно перевищувала аналогічний показник контрольної групи, переважно за рахунок збільшення високої активності і зниження низької активності (на 15.8 % і 6.1 % відповідно). Аналогічні показники тварин гру-

пи «Карбатрилу» не мали достовірних відмінностей від групи контролю (Табл. 1).

При оцінці мнестичних показників тварин було виявлено, що кількість помилок референтної пам'яті не мала достовірних відмінностей серед досліджуваних груп. З іншого боку, кількість помилок робочої пам'яті у групі карбамазепіну на 90 % перевищувала аналогічний показник як групи контролю, так і групи «Карбатрилу». Достовірних відмінностей між контрольною групою і групою «Карбатрилу» виявлено не було (Табл. 1).

При аналізі результатів експерименту за методикою «Відкрите поле» було виявлено, що, як і в радіальному лабіринті, спостерігалось достовірне збільшення пройденої відстані в групі карбамазепіну порівнюючи як з контролем (на 9.8 %), так і з групою «Карбатрилу» (на 20.9 %). Крім того, зазначалось достовірне зниження цього показника в групі «Карбатрилу» порівнюючи з контролем (на 10.1 %). При аналізі активності тварин була відзначена та сама тенденція, як і в радіальному лабіринті: достовірне збільшення активності в групі карбамазепіну порівнюючи як з контролем, так і з групою «Карбатрилу» як в абсолютному значенні (на 48.2 % і на 57.4 % відповідно), так і у відсотковому відношенні до показника неактивності (на 55.1 % і 43.3 % відповідно). Показник «неактивність», навпаки, в групі карбамазепіну був достовірно нижче як відносно контрольної групи (на 12.1 %), так і відносно групи «Карбатрилу» (на 10.7 %). Достовірних відмінностей між групою «Карбатрилу» і групою контролю за показниками активності виявлено не було (Табл. 2).

При оцінці специфічних показників методики «Відкрите поле» було виявлено, що введен-

Таблиця 1

Результати експерименту з радіальним лабіринтом, М ± м

Показник	Інтакт	Контроль	Карбамазепін	Карбатрил
Пройдена відстань, см	2117.19 ± 349.12	2549.87 ± 709.46 ¹	3520.02 ± 710.32 ²	2105.28 ± 381.31 ^{2,3}
Загальна активність, см ² /с	93373 ± 12563.04	79919.4 ± 16558.39 ¹	85933.72 ± 14679.29 ²	69551.97 ± 8803.89 ³
Тривалість низької активності, %	65.24 ± 5.42	72.15 ± 8.07 ¹	67.74 ± 6.99 ²	76.07 ± 4.68 ³
Тривалість високої активності, %	34.76 ± 5.42	27.85 ± 8.07 ¹	32.26 ± 6.99 ²	23.93 ± 4.68 ^{2,3}
Помилка референтної пам'яті, од.	3 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	2 ± 1
Помилка робочої пам'яті, од.	7 ± 1	10 ± 5	19 ± 4 ²	10 ± 2 ³

Примітки:

¹ достовірна різниця ($p < 0.05$) порівнюючи з інтактом;

² достовірна різниця ($p < 0.05$) порівнюючи з контролем;

³ достовірна різниця ($p < 0.05$) порівнюючи з карбамазепіном.

ня карбамазепіну призводило до достовірного підвищення кількості завмирань порівнюючи з групою контролю (на 36.5 %) і групою «Карбатрилу» (на 30.3 %) і достовірно знижувало кількість входжень у центр порівнюючи з контролем (на 80 %) і групою «Карбатрилу» (на 75 %), проте призводило до достовірного збільшення відстані, пройденої у центрі арени (на 58.1 % і 43.7 % відповідно) і уздовж стінок (на 10.6 % і 20.6 % відповідно), а також посилювало вертикальну пошукову активність, що проявлялося підвищенням кількості стійок біля стінки більше ніж у двічі порівнюючи з контролем і на 80 % порівнюючи з групою «Карбатрилу», а також стійок у центрі арени (у тричі і на 50 % відповідно). У групі «Карбатрилу» відстань, пройдена у центрі арени, на 10.1 % достовірно перевищувала аналогічний показник контролю, у той час як відстань, пройдена біля стіни, у цій групі була достовірно нижчою за показник контрольної групи (на 9.4 %). В інших показниках достовірних відмінностей виявлено не було (Табл. 2).

Висновки

1. Введення експериментальним тваринам протягом 10 діб карбамазепіну в середній терапевтичній дозі (75 мг/кг) призводить до достовірного зниження когнітивних функцій ЦНС (підвищення непродуктивної рухової активності і тривалості високої активності). Аналогічне введення таблеток «Карбатрил» (75 мг/кг у пе-

рерахунку на карбамазепін) не викликає подібних змін ЦНС.

2. Курсове введення карбамазепіну призводило до достовірного погіршення мнестичних функцій ЦНС (підвищення кількості помилок робочої пам'яті в групі карбамазепіну на 90 %). Введення таблеток «Карбатрил» не чинило негативного впливу на мнестичні функції ЦНС.

3. Курсове введення карбамазепіну призводило до появи ознак високої тривожності тварин (часті й тривалі епізоди завмирання, уникнення центральної частини арени). Введення таблеток «Карбатрил» не тільки не викликало підвищення тривожності, але й призводило до зниження цих показників проти показників групи контролю.

4. У результаті проведеного експерименту встановлено, що таблетки «Карбатрил» не чинять негативного впливу на вищі функції ЦНС, на відміну від карбамазепіну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зенков А.Р. Клиническая эпилептология / А.Р. Зенков. – М.: МИА, 2012. – 147 с.
2. Lason Wladyslaw. Pro- and antiapoptotic effects of anticonvulsant drugs [6th Conference on Progress in Etiopathogenesis of Seizures, Lublin, Nov. 16, 2001] // Pol. J. Pharmacol. – 2002. – 54, № 1. – P. 79.
3. The cognitive and psychomotor effects of remacemide and carbamazepine in newly diagnosed epilepsy / [K.A. Wesnes, C. Edgar, A.D. Dean et al.] // Epilepsy & behavior. – 2009. – № 14 (3). – P. 522-528.
4. Підвищення ефективності лікування епілепсії / Л.І. Кучеренко, І.Ф. Беленічев, В.Й. Мамчур [та ін.] // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я /

Таблиця 2

Результати експерименту у відкритому полі, М ± м

Показник	Інтакт	Контроль	Карбамазепін	Карбатрил
Пройдена відстань, см	5110,04 ± 290,62	5614,8 ± 461,32 ¹	6164,66 ± 223,01 ²	5100,81 ± 226,98 ^{2,3}
Загальна активність, см ² /с	7028,21 ± 1485,61	7449,92 ± 1864,68	11043,17 ± 2009,68 ²	7014,36 ± 944,34 ³
Тривалість активності, %	18,89 ± 5,32	17,55 ± 5,22	27,22 ± 4,59 ²	18,99 ± 3,35 ³
Тривалість неактивності, %	80,93 ± 5,31	82,28 ± 5,31	72,3 ± 4,84 ²	80,95 ± 3,34 ³
Завмирання, од.	73 ± 18	63 ± 17 ¹	86 ± 11 ²	66 ± 11 ³
Кількість входжень у центр, од.	7 ± 1	5 ± 2	1 ± 1 ²	4 ± 3 ³
Вільна відстань, см	36,22 ± 21,28	78,53 ± 68,02 ¹	124,18 ± 67,18 ²	86,43 ± 39,53 ^{2,3}
Відстань біля стінки, см	5073,82 ± 272,81	5522,17 ± 459,25 ¹	6032,49 ± 190,54 ²	5004,32 ± 199,94 ^{2,3}
Стійка у стінки, од.	2 ± 1	4 ± 2 ¹	9 ± 3 ²	5 ± 2 ³
Стійка вільна, од.	2 ± 1	1 ± 1	3 ± 1 ²	2 ± 0
Грумінг короткий, од.	1 ± 0	1 ± 0	2 ± 0	1 ± 0
Грумінг тривалий, од.	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
Дефекація, од.	3 ± 0	3 ± 0	4 ± 1	2 ± 0
Уринація, од.	0	2 ± 1	1 ± 0	0

Примітки:

¹ достовірна різниця (p < 0.05) порівнюючи з інтактом;

² достовірна різниця (p < 0.05) порівнюючи з контролем;

³ достовірна різниця (p < 0.05) порівнюючи з карбамазепіном.

Укрмедпатентінформ; Вип. 19 з проблеми «Фармація» — 2015. — № 225-2015. — С. 4.

5. Опрышко В.И. Исследование взаимодействия карбамазепина и тиотриазолина на модели фармакорезистентной эпилепсии / В.И. Опрышко // Запорожский медицинский журнал. — 2008. — № 4. — С. 31-35.

6. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение / [Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. и др.]. — Львов: Наутилус, 2005. — 156 с.

7. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. — М.: Высшая школа, 1991. — 344 с.

8. Лебедев И.В. Анализ поведения мышей линии C57BL/6 в аренах открытого поля разных размеров / И.В. Лебедев, М.Г. Плескачева, К.В. Анохин // Журнал высшей нервной деятельности. — 2012. — № 62 (4). — С. 485-496.

9. Плескачева М.Г. Методы оценки начальной ориентации и поведения на старте у мелких млекопитающих при ближнем хоминге / М.Г. Плескачева, О.С. Лучкина, П.А. Купцов // В сборнике «Труды Звенигородской биологической станции». — Москва: Издательство Московского университета. — 2011. — № 5. — С. 232-238.

10. Gould T.D. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice, Neuromethods. — Humana Press, 2009. — 237 p.

УДК 615.213'453.6.015

Резюме

Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И.,

Нименко А. Р., Кузьо Н. В.

Запорожский государственный медицинский университет

НПО «Фарматрон»

Сравнительная оценка влияния на высшие функции центральной нервной системы карбамазепина и таблеток «Карбатрил»

Целью исследования была сравнительная оценка влияния карбамазепина и таблеток «Карбатрил» на высшие функции центральной нервной системы (ЦНС) по таким показателям, как референтная и рабочая память, а так же двигательная и поисковая активность.

Исследование проведено на 20 крысах линии Wistar в возрасте 6 месяцев, массой 220-290 г. Использовали радиальный лабиринт LE760, методику «Открытое поле», цветную видеокамеру SSC-DC378P, Microsoft Excel 2016 с пакетом статистической обработки AtteStat 12.

В ходе исследования экспериментальным животным вводили карбамазепин в средней терапевтической дозе, что приводило к достоверному снижению когнитивных функций ЦНС, ухудшению мнестических функций ЦНС, появлению признаков высокой тревожности животных. При этом аналогичное введение «Карбатрила» не только не вызывает подобных изменений ЦНС, но и приводит к снижению этих показателей по отношению к группе контроля.

В результате проведенного эксперимента сделан вывод, что «Карбатрил» не оказывает негативного влияния на высшие функции ЦНС, в отличие от карбамазепина.

Ключевые слова: таблетки «Карбатрил», референтная и рабочая память, двигательная и поисковая активность.

UDC 615.213'453.6.015

Belenichev I. F., Kucherenko L. I.,

Nimenko A. R., Kuzio N. V.

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

SPA «Farmatron»

Comparative evaluation of carbamazepine and «Karbatril» tablets on higher functions of the central nervous system

Purpose of the study — comparative evaluation of the influence of carbamazepine and «Karbatril» on the higher functions of the central nervous system according to such indicators as reference and working memory, as well as motion and search activity.

The study was carried out on 20 rats of the Wistar line at the age of 6 months weighing 220-290 g. The study on memory was conducted using LE760 radial maze, «Open Field» method, SSC-DC378P color video camera, of Microsoft Excel 2016 with AtteStat 12 statistical processing package.

During the study, carbamazepine in an average therapeutic dose were administered to experimental animals, that leads to significant decrease in cognitive functions of the central nervous system, deterioration of mnesic functions of CNS, led to high anxiety in animals. In this case, the similar administration of «Karbatril» does not cause similar changes in the central nervous system, but also led to a decrease in these indicators in relation to the control group.

As a result of conducted experiment, it should be concluded that «Karbatril» does not adversely affect the higher functions of the central nervous system, as opposed to carbamazepine.

Keywords: «Karbatril» tablets, the reference and working memory, motion and search activity.

Беленичев Игорь Федорович. Д. б. н., профессор, завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету.

Кучеренко Людмила Іванівна. Д. фарм. н., професор, завідувачка кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету. Віце-президент НВО «Фарматрон».

Нименко Ганна Романівна. Викладач-стажист кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету.

Кузьо Назар Володимирович. Стажист кафедри патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету.