



А.В. Иванов

ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНА ПРОФІЛАКТИКА ПОРУШЕНЬ ПАМ'ЯТІ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ВАЛЬПРОАТУ НАТРІЮ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: пам'ять, пароксизмальна активність, вальпроат натрію, пірацетам, цитиколін, мемантин.

Епілепсія – захворювання, що призводить до порушення когнітивних функцій. Порушено питання застосування ноотропів на фоні дії антиконвульсанта. В експериментах на щурах показано, що досліджувані ноотропи пірацетам (500 мг/кг), цитиколін (500 мг/кг), мемантин (10 мг/кг) у комбінації з вальпроатом натрію (80 мг/кг) покращують пам'ять і не впливають на його антиконвульсантний ефект.

Церебропротекторная профилактика нарушений памяти при использовании вальпроата натрия

А.В. Иванов

Эпилепсия – заболевание, приводящее к нарушению когнитивных функций. Рассмотрены вопросы применения ноотропов на фоне действия антиконвульсанта. В экспериментах на крысах показано, что исследуемые ноотропы пирацетам (500 мг/кг), цитиколин (500 мг/кг), мемантин (10 мг/кг) в комбинации с вальпроатом натрия (80 мг/кг) улучшают память и не влияют на его антиконвульсантный эффект.

Ключевые слова: память, пароксизмальная активность, вальпроат натрия, пирацетам, цитиколин, мемантин.

Cerebroprotective prevention of memory disorders using sodium valproate

A.V. Ivanov

Epilepsy is the disease resulting in impaired cognitive function. The paper deals with the use of nootropics against the background of an anticonvulsant effect. Results of experiments on rats showed that investigated nootropics piracetam (500 mg/kg), citicoline (500 mg/kg), memantine (10 mg/kg) in combination with sodium valproate (80 mg/kg) improve memory and do not change its anticonvulsant effect.

Key words: memory, paroxysmal activity, sodium valproate, piracetam, citicoline, memantine.

Порушення когнітивних функцій і різні форми епілепсії у клініці нерідко спостерігають разом [1,2], і причиною порушення розумової діяльності у цих хворих можуть бути стани, не пов'язані з основним захворюванням (стрес, розлади мозкового кровообігу різного генезу). Але і сама епілепсія, як хронічна неврологічна патологія викликає когнітивний і «епілептичний» дефіцит, порушення мислення. Крім того, хворі з цим захворюванням змушені довгостроково, а деколи все життя приймати антиконвульсанти, що можуть послаблювати когнітивні процеси, зменшувати обсяг пам'яті та швидкість відтворення енграм, істотно знижувати інтелектуальний індекс (IQ) [1].

У зв'язку з цим, виправданим і необхідним є пошук фармакотерапевтичних шляхів усунення або зниження вираженості побічних ефектів антиконвульсантів у вигляді порушення розумової та фізичної працездатності. Серед таких засобів може бути фармакологічна група церебропротекторів. Також дослідження в окресленому напрямку можуть сприяти з'ясуванню дії цих препаратів на специфічну протисудомну активність антиконвульсантів.

МЕТА РОБОТИ

Порівняльне дослідження впливу церебропротекторів на порушення пам'яті та судомну готовність мозку щурів при дії протисудомного препарату вальпроату натрію.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на 100 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 180–220 г, яких утримували на

стандартному раціоні віварію (температура повітря: 22±2°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, внутрішньоочеревинно, цитиколін («Цераксон», розчин для внутрішнього застосування 100 мг/1 мл по 4 мл, виробництва «Nuscomed») в дозі 500 мг/кг, внутрішньошлунково, мемантину гідрохлорид («Мема», таблетки по 10 мг, виробництва «Actavis») в дозі 10 мг/кг, внутрішньошлунково; всі ноотропи вводили 1 раз на добу протягом 4 діб; вальпроат натрію («Орифил», таблетки по 300 мг, виробництва «Desitin Arzneimittel GmbH») в дозі 80 мг/кг, внутрішньошлунково однократно вводили за 1 годину до експерименту. Всі тварин випадково розподілено 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 до даних спеціалізованої літератури, а також використовували напрацьовані в нашій лабораторії. Введення ноотропних засобів тривало 4 доби, оскільки для досягнення терапевтичного ефекту вони потребують повторних прийомів.

Вивчення дії препаратів на навчання тварин, консолідацію пам'ятного сліду і відтворення енграм пам'яті. Формування умовного рефлексу проводили в експериментальній установці, що складається з 2 камер: великої освітленої (42×24 см) і малої затемненої (18×24 см), з'єднаних отвором.



Підлогу затемненого відсіку електрифіковано [3,4]. Щура поміщали в освітлену камеру. Після короткочасного (3–10 с) періоду непорушності тварина знаходила прохід (природний безумовно-рефлекторний процес «сховані в нірку») і входила в темну камеру установки. Через 15 с після появи норкового рефлексу на електрифіковану підлогу подавали змінний струм (50 Гц, 3 порога, 2–3 с). При електрошоковому роздратуванні щур перебігав в освітлену половину експериментальної установки і перебував під наглядом 3 хв. Якщо він не повертався в темний відсік протягом цього часу, умовну реакцію пасивного уникнення (УРПУ) вважали виробленою в одному поєднанні. Тварин, що повторно зайшли в темну камеру протягом 3 хв, виключали з дослідів. У першій серії експериментів з метою вивчення дії препаратів на початкові фази обробки пам'ятного сліду (навчання) 4 доби до початку формування пасивно-оборонної реакції тваринам дослідних груп вводили ноотропи. За 1 годину до експерименту вводили вальпроат. Ефект лікарських засобів оцінювали за їх здатністю збільшувати кількість тварин з УРПУ. У другій серії експериментів для судження про вплив препаратів на консолідацію пам'ятного сліду тваринам дослідних груп протягом 4 діб після формування пасивно-оборонної реакції вводили ноотропи. Ефект препаратів оцінювали за їх здатністю зменшувати кількість тварин, що втрачають УРПУ, при перевірці збереження виробленої навички навіку через 1 годину після одноразового введення на 4 добу експерименту вальпроату. У третій серії дослідів для оцінки дії досліджуваних засобів на процеси відтворення енграм пам'яті тваринам через 72 години після вироблення УРПУ одноразово вводили ноотропи і вальпроат за 1 годину до перевірки збереження виробленої навички.

Модель пентилентетразолових судом у щурів. Гострий напад клоніко-тонічних судом створювали шляхом одноразової внутрішньочеревинної ін'єкції коразолу в дозі 40 мг/кг 50 щурам масою 180–220 г [5,6]. Оцінювали латентний період та тривалість судом, летальність тварин. При моделюванні судом ноотропи вводили 4 доби до експерименту, вальпроат натрію – однократно, за 1 годину. Групи тварин і дози препаратів описано вище.

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 хі-квадрат χ^2 .

Усі експериментальні процедури здійснено згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідях» і Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, які використовуються в експериментах та з іншими науковими цілями від 18.03.1986 р.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати оцінки впливу комбінованого введення ноотропів і вальпроату натрію на формування пасивно-оборонної навички у щурів наведено в таблиці 1. Експериментальні дані свідчать, що ізольоване використання вальпроату натрію найнегативніше впливає на формування навички у тварин: при введенні антиконвульсанта в дозі 80 мг/кг лише у 60% щурів сформований навик УРПУ. Суттєво збільшується кількість тварин зі сформованою навичкою при комбінації вальпроату з мемантином 10 мг/кг – до 90% ($\chi^2=24$, $p=0,00001$). Мемантин (1-amino-3,5-dimethyl-adamantane), за даними спеціалізованої літератури, є першим в новому класі ліків для лікування хвороби Альцгеймера, що діють на глутаматергічну систему як блокатор NMDA-рецепторів [7]. Менш активними виявились комбінації антиконвульсанта з пірацетамом 500 мг/кг і цитиколіном 500 мг/кг. Цитиколін (цераксон) – природна ендогенна сполука, що є проміжним метаболітом у синтезі фосфатидилхоліну – одного з основних структурних компонентів клітинної мембрани [8].

Дослідження впливу ноотропів на відтворення енграм пам'яті у тварин при дії вальпроату натрію показало, що тварин з втратою навички при введенні протисудомного препарату 40%. Комбінація з пірацетамом або цитиколіном не призводила до вагомого позитивного впливу на відтворення енграм пам'яті у щурів. І лише введення вальпроату натрію з мемантином збільшує кількість тварин з відтворенням УРПУ до 90% ($p<0,001$).

Наступним фрагментом дослідження була оцінка впливу комбінації ноотропів з вальпроатом натрію на консолідацію пам'ятного сліду у щурів. Так, частка тварин, що втратили навичку при використанні антиконвульсанта, становить 30%. Суттєво збільшується частка тварин зі сформованою

Таблиця 1

Вплив комбінацій антиконвульсантів і ноотропів на навчання щурів (N=10)

Препарат, мг/кг	Формування пасивно-оборонного навичку		Відтворення енграм пам'яті		Консолідація пам'ятного сліду	
	Кількість навчених тварин	% зі сформованою навичкою	Кількість навчених тварин	% зі сформованою навичкою	Кількість навчених тварин	% зі сформованою навичкою
Вальпроат 80 мг/кг	6	60*	6	60*	7	70*
Вальпроат 80 мг/кг + Пірацетам 500 мг/кг	7	70*	7	70*	7	70*
Вальпроат 80 мг/кг + Цитиколін 500 мг/кг	7	70*	7	70*	8	80*
Вальпроат 80 мг/кг + Мемантин 10 мг/кг	9	90*	9	90*	8	80*
Контроль	10	100	10	100	10	100

Примітка: * – $p<0,001$ – порівняно з контролем за критерієм хі-квадрат χ^2 .



Таблиця 2

Вплив досліджуваних препаратів на параметри судом при введенні коразолу 40 мг/кг щурам (n=10)

Препарат, мг/кг	К-ть щурів з суд-ми	Латентний період судом, с			Тривалість судом, с			Бали судомного синдрому			Летальність	
		М	SD	збіл. в разях до контр.	М	SD	% до контр.	М	SD	% до контр.	%	SD
Коразол 100 (контроль)	10	111,4	7,72	-	1176,8	109,03	-	5	0	-	100	0
Коразол 100 + Вальпроат 80 мг/кг	10	615,4	14,52	5,52*	79,8	7,91	-93,22*	2,1	0,99	-58*	30**	14,49
Коразол 100 + Вальпроат 80 мг/кг + Пірацетам 500 мг/кг	10	601,6	10,80	5,40*	80,7	5,95	-93,14*	2,1	1,29	-58*	40**	15,49
Коразол 100 + Вальпроат 80 мг/кг + Цитиколін 500 мг/кг	9	613,11	10,03	5,50*	83,22	6,42	-92,93*	1,67	0,71	-66,6*	30**	14,49
Коразол 100 + Вальпроат 80 мг/кг + Мемантин 10 мг/кг	9	616,11	7,47	5,53*	85,56	7,91	-92,73*	1,67	1,12	-66,6*	30**	14,49

Примітка: * – $p < 0,001$ порівняно з групою контролю за критерієм Колмогорова-Смірнова; ** – $p < 0,05$ порівняно з групою контролю за критерієм χ^2 .

навичкою при комбінації препарату з мемантином і цитиколіном – до 80% ($\chi^2=9,52$, $p=0,002$).

Далі важливо було оцінити, як ноотропи можуть впливати на судомну активність щурів на моделі коразолових судом на фоні дії вальпроату натрію.

Дослідження показало, що введення вальпроату з цитиколіном і з мемантином призводить до незначного зниження чутливості тварин до застосованих доз конвульсанта коразолу. Так, у контрольній групі у всіх тварин спостерігали судоми, а при введенні зазначених комбінацій у 1 щура з групи взагалі не визначали судоми (табл. 2).

Латентний період судом у контрольній групі в середньому складав $111,4 \pm 7,72$ с. При введенні коразолу на фоні антиконвульсанта (ізолювано або в поєднанні з ноотропами) він суттєво ($p < 0,001$) збільшується – у 5,52 рази.

Порівняно з вальпроатом натрію латентний період судом на фоні дії даного антиконвульсанта з ноотропами незначно зменшується при застосуванні комбінацій: вальпроат+пірацетам, вальпроат+цитиколін на 2,24% і 0,37% відповідно. При додаванні мемантину латентний період дещо збільшується – на 0,12% (табл. 2).

Тривалість судом у групі контролю складає 19 хв 36,8 с. Тривалість коразолових судом суттєво зменшується на 93,22% при ізолюваному використанні вальпроату натрію ($p < 0,001$). Додавання церебропротекторів до антиконвульсанта практично не змінює тривалість судом.

Бальна оцінка судомного синдрому в групі контролю складала в середньому 5 балів. Інтенсивність судом суттєво зменшується ($p < 0,001$) на фоні дії вальпроату натрію з цитиколіном і мемантином і досягає найменшого значення 1,67 балів. У групі контролю летальність тварин була 100%. Суттєво зменшується летальність до 30% ($p < 0,05$) при використанні монопрепарату вальпроату натрію та його комбінацій з цитиколіном і мемантином.

Відомості про автора:

Іванов А.В., викладач каф. фармакології, клінічної фармакології та фармакоєкономіки ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

ВИСНОВКИ

Ноотропи в комплексному застосуванні з антиконвульсантом вальпроатом натрію підвищують здатність тварин до навчання, консолідацію пам'ятного сліду і відтворення енграм пам'яті. Особливо виражена ноотропна активність у щурів під впливом комбінації мемантину з вальпроатом.

Пірацетам, цитиколін і мемантин практично не впливають на антиконвульсантну дію вальпроату натрію.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Predictors of seizure outcome in newly diagnosed partial epilepsy: memory performance as prognostic factor / *M. Aikia, R. Kalviainen, E. Mervaala* [and other] // *Epilepsy Res.* – 1999. – V.37. – P. 159–167.
2. Epileptic Amnesic Syndrome revealing Alzheimer's disease / *B. Cretin, F. Blanc, C. Gaultier* [and other] // *Epilepsy Res.* – 2012. – №102 (3). – P. 206–209.
3. *Бородкин Ю.С.* Нейрохимические и функциональные основы долговременной памяти / *Бородкин Ю.С., Зайцев Ю.В.* – Л.: Медицина, 1982. – 216 с.
4. *Bures J.* Cortical spreading depression as a memory disturbing factor / *Bures J., Buresude O.* // *J. comp. and phisiol.* – 1963. – V. 56, №2. – P. 268–272.
5. Доклінічне вивчення специфічної активності потенціальних протисудомних препаратів: [Методичні рекомендації]; під ред. акад. *Головенко М.А., проф. Громова Л.О.* — К.: ДФЦ МОЗ України, 2003. – 46 с.
6. *Опрышко В.І.* Пошук шляхів підвищення ефективності та безпеки протисудомних засобів / *В.І. Опрышко, К.О. Кравченко, В.І. Мамчур* // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2008. – №12 (2). – С. 332–334.
7. *Мамчур В.І.* Нейрофармакологічний профіль действия глутаматергических препаратів / *В.І. Мамчур, К.А. Кравченко, В.І. Опрышко* // Журнал АМН України. – 2009. – Т. 15, №1. – С. 50–69.
8. *Secades J.* Citicoline: pharmacological and clinical review / *Secades J., Lorenzo J.* // *Update methods find. exp. clin. pharmacol.* – 2006. – №27. – P. 1–56.

Поступила в редакцію 04.03.2013 г.