

Применение пикамилона и ноопепта, а также их сочетания у белых крыс для устранения последствий тяжёлой степени острой алкогольной интоксикации

Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург

Резюме. Алкогольные отравления в течение многих лет занимают ведущее место среди бытовых отравлений в нашей стране. Однократное или систематическое потребление алкоголя приводит к нарушению функций центральной нервной системы, которые проявляются как в острый период, так и в отдаленные сроки после перенесенной интоксикации. Разработка средств эффективной терапии этих нарушений является важной проблемой практической медицины.

Приведены результаты исследования влияния пикамилона и дипептида ноопепта, а также их сочетания на динамику восстановления нарушенных когнитивных и локомоторных функций, процессов ноцицепции у крыс после тяжёлого отравления этанолом (0,8 ЛД₅₀). Охарактеризована выраженность и продолжительность нейротоксических нарушений, проявившихся после острого периода алкогольной интоксикации у экспериментальных животных с однократным воздействием токсической дозы этанола. Показано, что интоксикация этанолом крыс приводила к нарушению выработки условной реакции активного избегания плавания, проявлению мышечной релаксации, расстройству координации движений и ослаблению силы хватки, а также к снижению болевой чувствительности. Выявлено положительное влияние пикамилона (300 мг/кг) и ноопепта (30 мг/кг), а также их сочетания в тех же дозах на выраженность и скорость восстановления процесса обучения, локомоторных функций и болевой чувствительности у крыс, перенёвших тяжёлую форму интоксикации этанолом. Исследование динамики развития различных проявлений нейротоксического действия этанола и их дальнейшей фармакологической коррекции у экспериментальных животных представляется перспективным, поскольку позволит на доклиническом уровне обосновать возможность использования исследуемых препаратов в токсикологической клинике.

Ключевые слова: тяжёлое алкогольное отравление, этанол, пикамилон, ноопепт, болевая чувствительность, обучение, координация движений, мышечная сила.

Введение. Алкогольные отравления в течение многих лет занимают ведущее место среди бытовых отравлений в нашей стране. Более 60% всех смертельных отравлений обусловлено этой патологией. Из них около 98% летальных исходов наступает до оказания медицинской помощи на догоспитальном этапе [6]. В ряде случаев массовые отравления алкоголем и его суррогатами по территориальной распространённости и количеству пострадавших могут принимать характер чрезвычайных ситуаций химической природы [2].

Однократное или систематическое потребление алкоголя приводит к нарушению функций центральной нервной системы (ЦНС), которые проявляются как в острый период, так и в отдаленные сроки после перенесенной интоксикации [3]. Разработка средств эффективной терапии этих нарушений является важной проблемой практической медицины.

В качестве потенциального средства фармакологической коррекции последствий нейротоксических поражений острой алкогольной интоксикации (ОАИ) использовали ноотроп пикамилон (натриевая соль N-никотинил-гаммааминомасляной кислоты), который проявил способность улучшать психическую

деятельность, нарушенную этанолом [5]. Наряду с пикамилоном, была исследована терапевтическая активность дипептида ноопепта (этиловый эфир N-фенил-ацетил-L-пролил-глицина), у которого выявлено ноотропное и нейропротективное действие и высокая биодоступность для тканей мозга [8].

Цель исследования. Обосновать возможность фармакотерапии нарушений некоторых функций ЦНС экспериментальных животных, перенёвших тяжёлую форму острой алкогольной интоксикации с помощью пикамилона и ноопепта, а также их сочетания.

Материалы и методы. Исследование проведено на 200 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г, полученных из питомника «Рапполово», Ленинградская область. Опыты были проведены в соответствии с правилами гуманного обращения с животными в биологических экспериментах [7].

ОАИ вызывалась однократным внутрибрюшинным введением 33% раствора этанола в дозе, равной 0,8 ЛД₅₀. Выраженность интоксикации этанолом оценивалась по балльной системе, после чего рассчитывался индекс тяжести неврологических нарушений (ИТНН) [1]. Состояние животных оценивалось каждые

2 ч. Интактные животные (12 особей), получавшие внутрибрюшинно физиологический раствор в объёме, равном объёму вводимого этанола, составили 1 группу (контроль 1). Из выживших после затравки этанолом крыс формировались группы по 12 особей в каждой: 2 группа – животные без лечения (контроль 2); 3, 4, 5 группы – крысы, получавшие средства фармакологической коррекции: соответственно пикамилон в дозе в дозе 300 мг/кг; ноопепт в дозе 30 мг/кг и совместно пикамилон и ноопепт, в тех же дозах. Все препараты вводились однократно внутрибрюшинно, через 12 ч после введения 0,8 ЛД₅₀ этанола.

Условная реакция активного избегания (УРАИ) плавания при её ежедневном определении на протяжении нескольких суток позволяет осуществить оценку процесса обучения у экспериментальных животных [4]. При исследовании УРАИ крысу медленно погружали в бассейн и позволяли ей плавать до тех пор, пока она не найдет стержень и не выберется по нему из воды или после истечения 5 мин плавания. При этом регистрировался латентный период избегания (время от помещения животного в воду до обнаружения вертикального стержня и выхода из воды).

Влияние этанола и фармакологических препаратов на моторную функцию крыс оценивали с помощью горизонтального стержня «Rota Rot» фирмы «Ugo Basile» (Италия) и анализатора силы хватки «GS3» фирмы «Bioseb» (Франция). Снижение продолжительности удерживания животного на стержне диаметром 6 см, вращающемся со скоростью 8 об/мин, рассматривалось как проявление нарушения координации движений и мышечной релаксации. При оценке силы хватки крысе позволяли ухватиться передними лапами за металлическую решётку анализатора «GS3», который позволял регистрировать силу захвата, развиваемую животным в ньютонах. Уменьшение силы хватки рассматривалось как проявление мышечной слабости [7].

Болевую чувствительность крыс определяли по состоянию их реакции на термическое раздражение. Световой пучок большой интенсивности, генери-

руемый лампой прибора «Tail Flick Analgesia» фирмы «Columbus Instruments (Соединенные Штаты Америки)» фокусировался на хвосте крысы до тех пор, пока не происходило его отдёргивание. Время отдёргивания хвоста говорило об изменении болевой чувствительности животного.

Полученные данные обрабатывали параметрическим методом с помощью t-критерия Стьюдента, используя компьютерную программу «Biostat». Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. ОАИ этанолом у крыс характеризовалось выраженным депримирующим эффектом вплоть до принятия крысами бокового положения, полной неподвижности и отсутствия реакции на внешние раздражители, появившиеся через 5 мин после введения 0,8 ЛД₅₀ этанола. ИТНН у животных был на уровне 18–25 баллов, что считается эквивалентом глубокой комы у человека. Через 12 ч после введения этанола у крыс не наблюдалось внешне выраженных признаков интоксикации, ИТНН у них характеризовался 55 баллами и более – состоянием в пределах физиологической нормы [4].

Показано, что интоксикация этанолом крыс приводила к нарушению выработки УРАИ, о чём свидетельствовало достоверное увеличение продолжительности плавания у этих животных по сравнению с интактной группой на протяжении 9 суток обучения. Однократное введение пикамилона и ноопепта, а также их сочетания предотвращало подобное действие этанола на динамику выработки УРАИ – у животных отмечалось последовательное укорочение латентного периода реакции при её последующей регистрации, что соответствует естественным процессам формирования следа памяти. При этом введение пикамилона достоверно снижало время плавания, начиная уже с первых суток после интоксикации этанолом, а достоверное нормализующее действие ноопепта и сочетания пикамилона и ноопепта начинало проявляться с 3 суток (табл. 1).

Таблица 1

Продолжительность времени плавания (методика УРАИ плавания) на фоне введения 0,8 ЛД₅₀ этанола и после фармакологической коррекции, с (M±m)

| Группа животных | Время наблюдения после введения этанола | | | | | |
|--|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| | 12 ч | 1 сутки | 3 сутки | 5 сутки | 7 сутки | 9 сутки |
| Интактная | 28,7±3,8 | 13,6±2,7 | 8,7±0,6 | 4,7±0,6 | 5,1±0,5 | 4,9±0,5 |
| 0,8 ЛД ₅₀ этанола | 72,4±10,8 ¹ | 25,2±2,8 ¹ | 42,8±4,8 ¹ | 29,9±7,0 ¹ | 57,7±11,0 ¹ | 26,6±4,2 ¹ |
| 0,8 ЛД ₅₀ этанола + пикамилон | 46,5±4,7 ² | 12,7±3,8 ² | 11,9±4,6 ² | 10,8±5,4 | 12,7±2,9 ² | 14,9±3,1 |
| 0,8 ЛД ₅₀ этанола + ноопепт | 50,1±11,7 | 34,0±9,5 | 8,7±3,1 ² | 7,2±2,4 ² | 10,4±4,5 ² | 4,3±0,4 ² |
| 0,8 ЛД ₅₀ этанола + пикамилон + ноопепт | 46,2±8,9 | 27,2±6,1 | 11,5±2,3 ² | 10,5±1,6 ² | 12,4±3,5 ² | 9,0±0,3 ² |

Примечание: 1 – различия по сравнению с интактными животными; 2 – по сравнению с 0,8 ЛД₅₀ этанола, $p \leq 0,05$.

Введение 0,8 ЛД50 этанола приводило к нарушению способности животных удерживать положение равновесия на горизонтальном стержне в течение трёх суток наблюдения, что может рассматриваться как проявление мышечной релаксации и нарушения координации движений. Под влиянием пикамилона и ноопепта достоверно увеличивалось время удержания животных на стержне через 24 ч после интоксикации. Совместное введение препаратов приводило к достоверному увеличению времени удерживания крыс на стержне уже через 12 ч после затравки этанолом,

наблюдавшийся эффект был более выражен на протяжении всего времени наблюдения (табл. 2).

После интоксикации 0,8 ЛД50 этанола у крыс отмечалось снижение силы хватки (табл. 3). Введение исследуемых препаратов по отдельности, а также их суммы устраняло данные эффекты этанола уже в первые 12 ч после введения.

После однократного введения 0,8 ЛД50 этанола у крыс было отмечено значительное снижение болевой чувствительности (табл. 4), выражавшееся в удлинении времени отдёргивания хвоста животного

Таблица 2

Время удержания крыс на вращающемся стержне на фоне введения 0,8 ЛД50 этанола и после фармакологической коррекции, с (M±m)

| Группа животных | Время наблюдения после введения этанола | | |
|--|---|---------------------------|------------|
| | 12 ч | 1 сутки | 3 сутки |
| Интактная | 597,4±1,9 | 595,9±3,1 | 595,2±3,3 |
| 0,8 ЛД50 этанола | 176,1±36,6 ¹ | 255,6±44,2 ¹ | 562,1±14,0 |
| 0,8 ЛД50 этанола + пикамилон | 254,6±88,3 ^{1,2} | 486,2±55,5 ^{1,2} | 586,0±9,2 |
| 0,8 ЛД50 этанола + ноопепт | 381,6±56,8 ^{1,2} | 481,9±51,7 ^{1,2} | 592,0±14,6 |
| 0,8 ЛД50 этанола + пикамилон + ноопепт | 495,1±33, ²⁻⁴ | 563,3±24,5 ²⁻⁴ | 590,0±14,5 |

Примечание: 1 – различия по сравнению с интактными животными; 2 – по сравнению с 0,8 ЛД50 этанола; 3 – по сравнению с пикамилоном; 4 – по сравнению с ноопептом, p≤0,05.

Таблица 3

Сила хватки на фоне введения 0,8 ЛД50 этанола и после фармакологической коррекции, г (M±m)

| Группа животных | Время наблюдения после введения этанола | | |
|--|---|-------------------------|----------|
| | 12 ч | 1 сутки | 3 сутки |
| Интактная | 15,0±0,9 | 15,8±1,1 | 14,3±0,9 |
| 0,8 ЛД50 этанола | 9,5±0,3 ¹ | 10,1±0,3 ¹ | 11,8±0,4 |
| 0,8 ЛД50 этанола + пикамилон | 11,4±0,8 ^{1,2} | 11,5±0,9 | 12,5±1,2 |
| 0,8 ЛД50 этанола + ноопепт | 11,5±0,7 ^{1,2} | 12,1±1,3 | 12,3±1,1 |
| 0,8 ЛД50 этанола + пикамилон + ноопепт | 13,5±1,3 ² | 14,4±1,0 ^{2,3} | 13,3±1,4 |

Примечание: 1 – различия по сравнению с интактными животными; 2 – по сравнению с 0,8 ЛД50 этанола; 3 – по сравнению с пикамилоном; 4 – по сравнению с ноопептом, p≤0,05.

Таблица 4

Время отдёргивания хвоста при предъявлении термического болевого стимула на фоне введения 0,8 ЛД50 этанола и после фармакологической коррекции, с (M±m)

| Группа животных | Время наблюдения после введения этанола | | | |
|--|---|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 12 ч | 1 сутки | 2 сутки | 3 сутки |
| Интактная | 7,8±0,4 | 7,5±0,7 | 5,8±0,9 | 4,9±1,1 |
| 0,8 ЛД50 этанола | 37,1±3,0 ¹ | 28,3±4,4 ¹ | 12,1±1,4 ¹ | 10,1±0,9 |
| 0,8 ЛД50 этанола + пикамилон | 11,4±1,5 ² | 10,2±1,9 ² | 9,2±0,7 | 9,1±0,8 |
| 0,8 ЛД50 этанола + ноопепт | 14,6±1,2 ² | 10,7±1,5 ² | 8,4±1,1 | 8,3±0,9 |
| 0,8 ЛД50 этанола + пикамилон + ноопепт | 9,1±1,9 ^{2,4} | 6,0±0,6 ²⁻⁴ | 5,4±0,6 ²⁻⁴ | 4,2±0,7 ²⁻⁴ |

Примечание: 1 – различия по сравнению с интактными животными; 2 – по сравнению с 0,8 ЛД50 этанола; 3 – по сравнению с пикамилоном; 4 – по сравнению с ноопептом, p≤0,05.

по предъявлении ему термического раздражения. Введение препаратов устраняло данные эффекты этанола уже на первые сутки после введения, нормализуя процессы болевощущения, нарушенные алкоголем. Эффект совместного введения препаратов был более выражен и приближается к показателям интактной группы животных.

Выводы

1. Пикамилон в дозе 300 мг/кг при однократном введении уже в первые 12 ч после интоксикации этанолом способствует нормализации процесса обучения, восстановлению координации движений и болевой чувствительности.

2. Ноопепт в дозе 30 мг/кг при введении на раннем этапе после интоксикации этанолом восстанавливает координацию движений и болевую чувствительность. Восстановление процесса обучения осуществляется на 2-е и 3-и сутки соответственно.

3. Совместное применение пикамилона и ноопепта в дозе 300 и 30 мг/кг соответственно увеличивает скорость восстановления нарушений моторики и болевой чувствительности после интоксикации этанолом.

Литература

1. Бонитенко, Е.Ю. Оценка неврологического статуса при острой алкогольной интоксикации в эксперименте / Е.Ю. Бонитенко [и др.] // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. – 2010. – № 3. – С. 300–304.
2. Бонитенко, Е.Ю. Чрезвычайные ситуации химической природы / Е.Ю. Бонитенко, С.П. Нечипоренко // Роль токсикологических центров в обеспечении химической безопасности на региональном уровне: мат. научн.-практ. конф. – Екатеринбург: УГМА, 2011. – С. 14–16.
3. Бонитенко, Ю.Ю. Острые отравления этанолом и его суррогатами / Ю.Ю. Бонитенко [и др.]. – СПб.: ЭЛБИ-СПБ, 2005. – 225 с.
4. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон. – М.: Наука, 1992. – 250 с.
5. Копелевич, В.М. Химия, фармакология и метаболизм пикамилона / В.М. Копелевич [и др.] // Пикамилон в лечебной практике. – М.: Акрихин, 1997. – С. 9–21.
6. Лужников, Е.А. Острые отравления у взрослых и детей / Е.А. Лужников, Г.Н. Суходолова. – М.: Эксмо, 2009. – 560 с.
7. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / А.Н. Миронов [и др.]. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
8. Островская, Р.У. Оригинальный ноотропный и нейропротективный дипептид ноопепт (ГВС-111) / Р.У. Островская [и др.] // Эксперимент. и клин. фармакология – 2002. – № 5 (65). – С. 66–72.

D.S. Lisitsky, A.N. Petrov, M.K. Shevchuk

Picamilon and noopept application and their combinations for coping of effects caused by severe acute alcohol intoxication in white rats

Abstract. Over the years ethanol poisoning occupies the leading position among social poisoning in our country. Single or systematic alcohol consumption leads to dysfunction of the central nervous system, which is manifested as in the acute phase so in the long-term period after undergoing intoxication. Development of effective therapy of these disorders is an important issue of practical medicine.

The results of investigation of an effect of drugs picamilon, dipeptide noopept and their combination on the dynamics of cognitive and locomotor functions recovery, nociception processes in rats after a severe ethanol poisoning (0,8 LD50) are performed. Severity and duration of neurotoxic disorders manifested after acute alcohol intoxication period in experimental animals are characterized with a single administration of a toxic dose of ethanol. It has been shown that ethanol intoxication in rats led to a dysfunction of conditional reaction of active avoidance of swimming, symptoms of muscle relaxation, ataxia and weakening of grip strength, as well as reduction of pain sensitivity. Experimental data showed a positive effect of picamilon (300 mg/kg) and noopept (30 mg/kg), as well as their combination in the same doses on the severity and rate of recovery of the learning process, locomotor functions and pain sensitivity in rats with severe ethanol intoxication. The investigation of the dynamics of the various manifestations of the neurotoxic effects of ethanol and its further pharmacological correction in experimental animals is promising, as it allows justifying the use in toxicology of the analyzed medicines produced by pharmaceutical companies in Russia on the preclinical stage.

Key words: severe alcohol poisoning, ethanol, picamilon, noopept, nociception sensitivity, learning, rotorod performance, muscle strength.

Контактный телефон: +7-911-938-23-85; e-mail: lisitskiydmity@gmail.com