

А.Н. Гребенюк, В.Л. Рейнюк, Д.А. Халютин,  
А.А. Ховпачев, Е.В. Давыдова

## Оценка эффективности пептидных препаратов в качестве средств коррекции нарушений функций центральной нервной системы, вызванных высокими дозами этанола

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

**Резюме.** В последнее время острые отравления этанолом выходят на ведущее место среди бытовых отравлений в России. Даже при однократном потреблении алкоголя нарушаются функции высшей нервной деятельности, которые проявляются как в острый, так и в отдаленный период после перенесенной интоксикации. Изыскание новых лекарственных средств, которые бы позволили проводить коррекцию нарушений высшей нервной деятельности при острой алкогольной интоксикации, является актуальным. Представлена сравнительная оценка эффективности пептидных препаратов семакса и моликсана в качестве средств коррекции нарушений функций центральной нервной системы (памяти, процессов обучения, моторики) при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом у крыс. Установлено, что этанол вызывает нарушение памяти, процессов обучения и моторики крыс в течение двух недель от начала интоксикации. Применение семакса, моликсана и их сочетания улучшает обучаемость и память крыс, а также физическую выносливость и координацию движений отравленных животных. Монотерапия алкогольной интоксикации семаксом, моликсаном и комбинированная терапия совместным применением обоих препаратов не отличаются по эффективности друг от друга.

**Ключевые слова:** этанол, моликсан, семакс, память, обучение, физическая выносливость, координация.

**Введение.** Людские потери, сопряженные с алкоголизацией, включают в себя случаи фатальных отравлений и смертность от косвенных последствий злоупотребления алкогольными напитками (соматическая патология, убийства, самоубийства, дорожно-транспортные происшествия и прочее) [11, 13, 24]. Как следует из данных Федеральной службы государственной статистики, в России смертность от случайных отравлений алкоголем составила (тыс. чел.): в 2000 г. – 37,2; в 2001 г. – 41,1; в 2002 г. – 44,7; в 2003 г. – 45,0; в 2004 г. – 42,7; в 2005 г. – 41,6; в 2006 г. – 28,5; в 2007 г. – 25,2; в 2008 г. – 23,9; в 2009 г. – 21,3; в 2010 г. – 19,1. Особенную озабоченность вызывает то, что после перенесенной острой тяжелой интоксикации этанолом у значительного количества пациентов сохраняются остаточные явления и отдаленные последствия, связанные с нарушением функции центральной нервной системы (ЦНС) [2, 9, 18]. Обнаружено, что умственные способности и память ухудшаются под влиянием даже самых малых доз алкоголя, кроме того, нарушается координация движений, притупляется бдительность, сообразительность [19, 20, 23].

В связи с этим изыскание новых лекарственных средств, которые бы позволили проводить коррекцию и лечение нарушений высшей нервной деятельности при острой алкогольной интоксикации, является актуальным. В качестве таких средств могут рассматриваться пептидные препараты [17]. Показано,

что метаболическим активаторам и нейропептидам, легко проникающим через гематоэнцефалический барьер, присущи следующие свойства: ноотропное (ноотропоподобное) действие, т.е. способность повышать устойчивость ЦНС к действию различных повреждающих факторов; способность сохранять (оптимизировать) метаболическую активность нервных клеток при воздействии повреждающих факторов; восстанавливать нарушенный метаболизм и энергетический дефицит в нейронах; оказывать антиоксидантный (антисвободнорадикальный) эффект; прямо активировать нейротрофические процессы за счет стимуляции спрутинга и выработки нейротрофических факторов; препятствовать развитию нейрональной дегенерации вследствие различных патологических процессов (аутоиммунных, токсических, возрастных и др.) [15, 16, 20].

Пептидные препараты (пикамилон, ноопепт, семакс) показали высокую эффективность в коррекции нарушений функции высшей нервной деятельности при интоксикациях депримирующими агентами и черепно-мозговых травмах [1, 7, 8]. Большие перспективы в коррекции таких нарушений при различных экстремальных состояниях организма также связывают с моликсаном, который обладает гепатопротекторной, противовирусной, антицирротической и токсикомодифицирующей активностями [14]. Однако до настоящего времени эффективность этих препаратов для

коррекции нарушений высшей нервной деятельности, связанных с острой тяжелой интоксикацией этанолом, не исследовалась.

**Цель исследования.** Обосновать возможность применения пептидных препаратов семакса и моликсана для коррекции нарушений функций ЦНС при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом.

**Материалы и методы.** Экспериментальные исследования выполнены на 200 белых беспородных крысах-самцах массой 200–220 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животных содержали в однополых группах в условиях вивария, не более 6 особей в одной клетке при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света с 8 до 20 ч при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . За сутки до эксперимента животных не кормили. Экспериментальные исследования проводили в осенне-зимний период. При проведении исследований выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [10].

Крысы были разделены на 5 групп: первая – интактные животные, которых не подвергали никаким фармакологическим и токсическим воздействиям; вторая – животные, которым вводили этанол и физиологический раствор в объемах, равных вводимым препаратам; третья – животные, которым вводили этанол и семакс; четвертая – животные, которым вводили этанол и моликсан; пятая – животные, которым вводили этанол, семакс и моликсан.

40% этанол вводили внутрижелудочно при помощи зонда в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$  ( $12 \text{ г/кг}$  массы тела); в связи с большим объемом вводимого раствора дозу делили поровну на два введения через 15 мин [6]. Категории токсодоз и дозировка этанола были установлены в ходе предварительных экспериментов и соответствуют данным литературы [4]. Семакс в виде 1% раствора вводили интраназально при помощи биохимической пипетки в разовой дозе  $3 \text{ мг/кг}$ . Моликсан вводили внутрибрюшинно в разовой дозе  $30 \text{ мг/кг}$ .

В предыдущих исследованиях было показано, что наиболее эффективной схемой введения препаратов была лечебно-профилактическая [4], поэтому исполь-

зовали схему введения препаратов – за 1 ч до и сразу после введения этанола.

Процесс обучения оценивали с помощью условной реакции активного избегания (УРАИ) [3], а памяти – условной реакции пассивного избегания болевого раздражения (УРПИ) [5]. Моторную функцию (равновесие, физическую выносливость и координацию движений) оценивали с помощью вращающегося стержня [12].

Полученные данные подвергали стандартной статистической обработке с вычислением среднего значения показателя и его ошибки. Достоверность различий средних значений показателей в экспериментах проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Вероятность ошибки  $p \leq 0,05$  считали достаточной для вывода о статистической значимости различий.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что 40% этанол вызывает нарушение памяти, процессов обучения и моторики у крыс в течение двух недель от начала интоксикации. При этом семакс, моликсан и их сочетание ускоряли восстановление памяти, обучаемость и моторику крыс в течение двух недель от начала интоксикации. Так, интоксикация этанолом приводила к статистически значимому увеличению латентного периода плавания по сравнению с интактной группой. Применение семакса и/или моликсана позволяло последовательно укоротить латентный период активного избегания при его последующей регистрации, что соответствует естественным процессам формирования следа памяти. При этом достоверно ( $p \leq 0,05$ ) снижалось время плавания крыс, начиная уже со вторых суток после интоксикации этанолом (табл. 1).

Интоксикация этанолом в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$  приводила к увеличению латентного периода активного избегания, особенно на 2 и 5 сутки, что свидетельствует о нарушении процесса сохранения и воспроизведения приобретенного навыка. Применение семакса и/или моликсана в равной степени оказывало благоприятное влияние на процесс выработки УРАИ у предварительно обученных крыс, о чем свидетельствует достоверное увеличение времени плавания (латентного периода УРАИ) по сравнению с интактной группой на 2, 5 и 7 сутки. К 14 суткам происходило полное восстановление нарушенных процессов (табл. 2).

Таблица 1

**Влияние семакса и моликсана и их сочетания на изменение латентного периода УРАИ плавания у предварительно необученных крыс после острого отравления этанолом в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ , с ( $M \pm m$ )**

Группа, n=12	Время наблюдения после введения этанола, сут			
	2	5	7	14
Интактная	$26,4 \pm 1,4$	$14,4 \pm 1,7$	$9,7 \pm 1,3$	$7,4 \pm 1,0$
Этанол + физиологический раствор	$112,8 \pm 5,0^*$	$85,5 \pm 4,1^*$	$48,3 \pm 3,1^*$	$38,7 \pm 2,3^*$
Этанол + семакс	$95,7 \pm 4,3^* \#$	$70,8 \pm 4,1^* \#$	$37,9 \pm 2,3^* \#$	$23,4 \pm 2,0^* \#$
Этанол + моликсан	$94,1 \pm 4,6^* \#$	$72,5 \pm 3,1^* \#$	$38,1 \pm 2,0^* \#$	$23,7 \pm 2,0^* \#$
Этанол + семакс + моликсан	$89,8 \pm 4,2^* \#$	$71,7 \pm 3,2^* \#$	$35,3 \pm 3,2^* \#$	$22,0 \pm 1,9^* \#$

**Примечание:** \* – различия по сравнению с группой интактных животных; # – по сравнению с группой этанол + физиологический раствор,  $p < 0,05$ .

Таблица 2

**Влияние семакса и моликсана и их сочетания на изменение латентного периода УРАИ плавания у предварительно обученных крыс после острого отравления этанолом в дозе 1,5 ЛД<sub>50</sub>, с (M±m)**

Группа, n=7	Время наблюдения после введения этанола, сут		
	2	5	7
Интактная	10,7±1,6	6,6±3,4	5,2±1,2
Этанол + физиологический раствор	79,7±4,2*	60,7±3,4*	18,9±2,6*
Этанол + семакс	64,1±3,4*#	38,1±2,6*#	16,7±1,5*
Этанол + моликсан	66,1±3,4*#	42,7±2,9*#	12,3±1,9*
Этанол + семакс + моликсан	61,4±4,4*#	41,4±3,6*#	13,3±1,9*

**Примечание:** \* – различия по сравнению с группой интактных животных; # – по сравнению с группой этанол + физиологический раствор, p<0,05.

Установлено, что через 2, 5, 7 и 14 суток после острого алкогольного отравления и одноразовой выработки УРПИ количество обученных крыс (не зашедших в темный отсек в течение 3 мин) уменьшилось на 60% по сравнению с группой, принимавшей этанол, а в группах с фармакологической коррекцией на 10–20%.

Сопоставление изменения латентного периода (ЛП) УРПИ на 2, 5, 7 и 14 сутки после обучения (ЛП<sub>2</sub>, ЛП<sub>5</sub>, ЛП<sub>7</sub> и ЛП<sub>14</sub>) с его значением сразу после обучения (ЛП<sub>0</sub>) показало значительное уменьшение разницы между этими показателями у крыс, отравленных этанолом. Уменьшение латентного периода захода в наказуемый отсек после введения этанола в дозе 1,5

ЛД<sub>50</sub> свидетельствует об ухудшении воспроизведения приобретённого навыка, что может оцениваться как нарушение процессов памяти (табл. 3).

Интоксикация этанолом приводила к нарушению способности животных удерживать положение равновесия на вращающемся стержне на 2, 5 и 7 сут наблюдения, что может рассматриваться как проявление мышечной релаксации и нарушения координации движений. Применение моликсана, семакса и их сочетания достоверно увеличивало время удержания животных на стержне на 2 сут после начала интоксикации в 2,5, 2,8 и 3 раза соответственно. Наблюдавшийся эффект регистрировался на протяжении 7 сут, а к 14 сут нивелировался (табл. 4).

Таблица 3

**Влияние семакса и моликсана и их сочетания на изменение латентного периода УРПИ после введения этанола в дозе 1,5 ЛД<sub>50</sub>, с (M±m)**

Группа, n=7	Время наблюдения после введения этанола, сут				
	ЛП0	ЛП2	ЛП5	ЛП7	ЛП14
Интактная	15,7±1,4	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	165,7±1,9
Этанол + физиологический раствор	17,3±2,4	128,3±6,3*	128,3±8,5*	117,4±14,0*	110,7±19,1*
Этанол + семакс	19,6±2,2	169,4±12,8#	163,4±8,3#	155,0±11,3	155,4±8,4
Этанол + моликсан	16,4±1,2	173,6±11,2#	175,1±9,2#	169,2±11,2#	167,1±23,8
Этанол + семакс + моликсан	15,6±1,7	176,0±12,9#	169,4±9,7#	151,9±13,5	149,0±17,1

**Примечание:** \* – различия по сравнению с группой интактных животных; # – по сравнению с группой этанол + физиологический раствор, p<0,05.

Таблица 4

**Влияние семакса, моликсана и их сочетания на время удержания крыс на вращающемся стержне после введения этанола в дозе 1,5ЛД<sub>50</sub>, с (M±m)**

Группа, n=7	Время наблюдения после введения этанола, сут			
	2	5	7	14
Интактные	60,0±0,0	60,0±0,0	60,0±0,0	60,0±0,0
Этанол + физиологический раствор	15,1±2,6*	25,0±3,5*	40,6±6,5*	52,1±4,5
Этанол + семакс	43,0±4,9*#	56,1±1,9#	56,4±2,8#	60,0±0,0
Этанол + моликсан	39,0±5,9*#	52,6±4,9#	51,7±3,9	56,4±2,8
Этанол + семакс + моликсан	44,7±4,4*#	51,4±5,9#	58,6±1,4#	57,9±2,1

**Примечание:** \* – различия по сравнению с группой интактных животных; # – по сравнению с группой этанол + физиологический раствор, p<0,05.

П.Д. Шабанов и соавт. [16] установили, что такие пептидные препараты, как кортексин, церебролизин и кортаген при системном введении обладают психотропной активностью, заключающейся в психоактивирующем действии пептидов на интактных крыс. Показано также, что применение семакса в ранние сроки интоксикации этанолом в дозе 0,8ЛД<sub>50</sub> приводит к быстрому восстановлению двигательной и исследовательской активности у отравленных этанолом животных [1]. Данные, полученные нами на интактных крысах, крысах, подвергшихся воздействию высоких доз этанола, а также этанола и фармакологической коррекции (моликсаном, семаксом и их сочетанным применением), не противоречат выводам П.Д. Шабанова [16]. При этом изменения у крыс, вызванные этанолом, и коррекция этих изменений семаксом аналогичны выявленным другими авторами [1, 22].

Механизм действия семакса может быть связан с его влиянием на текучесть синаптических мембран, модуляцию рецепторных функций, процессы фосфорилирования белков, торможением активации микроглии и избыточного синтеза нейротоксичных цитокинов. Кроме того, семакс обладает самостоятельным нейротрофическим эффектом [1, 16]. Лечебные эффекты моликсана, вероятно, связаны с его цито- и нейропротекторной активностью. Пептидная (окисленный глутатион) и непептидная (инозин) компонента моликсана повышают устойчивость клеток к действию ксенобиотиков [14]. Сочетание нейро- и цитопротекторных механизмов объясняет высокую эффективность комбинированного применения семакса и моликсана при интоксикации этанолом.

Следовательно, пептидные препараты благоприятно влияют на течение острой интоксикации этанолом и способны влиять на восстановление нарушенных функций высшей нервной деятельности крыс, воздействием этанола и продуктами его метаболизма. Выявленный эффект семакса и моликсана на течение крайне тяжелой интоксикации этанолом достаточно важен. Во-первых, снижается степень тяжести интоксикации и увеличивается период от момента начала интоксикации до угнетения функций ЦНС. Во-вторых, идет более быстрое восстановление нарушенных этанолом функций ЦНС.

### Выводы

Этанол в дозе 1,5 ЛД<sub>50</sub> вызывает у крыс нарушение памяти, процессов обучения, физической выносливости и координации в течение двух недель после начала интоксикации.

Применение семакса, моликсана и их сочетания позитивно влияет на память, процессы обучения отравленных этанолом крыс, а также улучшает физическую выносливость и координацию животных.

Монотерапия алкогольной интоксикации семаксом, моликсаном и комбинированная терапия

совместным применением обоих препаратов не отличаются по эффективности друг от друга.

### Литература

1. Башарин, В.А. Нейропептиды и субстраты энергетического обмена в терапии тяжелых отравлений депримирующими веществами (экспериментальное исследование): автореф. дис. д-ра мед. наук / В.А. Башарин. – СПб.: ВМА, 2011. – 40 с.
2. Бонитенко, Ю.Ю. Острые отравления этанолом и его суррогатами / Ю.Ю. Бонитенко [и др.]. – СПб.: Элби – СПб., 2005. – 225 с.
3. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон. – М.: Наука, 1992. – 250 с.
4. Гребенюк, А.Н. Эффективность нейропептида и гепатопротекторов пептидной и непептидной природы в терапии острых крайне тяжелых отравлений этиловым спиртом / А.Н. Гребенюк, [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2014. – № 1. – С. 136–141.
5. Кругликов, Р.И. Нейрохимические механизмы обучения и памяти / Р.И. Кругликов. – М.: 1981. – 211 с.
6. Курсов, С.В. Острое отравление этанолом / С.В. Курсов, К.Г. Михневич, В.И. Кривобок // Медицина неотложных состояний. – 2012. – № 7–8 (46–47). – С. 22–35.
7. Лисицкий, Д.С. Фармакологическая коррекция нейротоксических поражений у белых крыс после тяжелой формы острой алкогольной интоксикации / Д.С. Лисицкий, А.Н. Петров, М.К. Шевчук // Токсикологический вестник. – 2013. – № 1. – С. 19–23.
8. Лисицкий, Д.С. Применение пикамилаона и ноопепта, а также их сочетания у белых крыс для устранения последствий тяжелой степени острой алкогольной интоксикации / Д.С. Лисицкий, А.Н. Петров, М.К. Шевчук // – Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2014. – № 1. – С. 156–159.
9. Маркизова, Н.Ф. Спирты / Н.Ф. Маркизова [и др.]. – СПб.: Изд-во «Фолиант», 2004. – 112 с.
10. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. / А.Н. Миронов [и др.]. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
11. Немцов, А.В. Алкогольная история России: новейший период / А.В. Немцов. – М.: Книжный дом «Либроком», 2009. – 320 с.
12. Нужный, В.П. Сравнительное экспериментальное исследование острого и подострого токсического действия коньяка и виски / В.П. Нужный [и др.]. – Наркология. – 2002. – № 10 – С. 46–52.
13. Осыченко, А.С. Особенности статистических данных отравлений алкоголем / А.С. Осыченко, А.Д. Донника // Adv. curr. nat. sci. – 2011. – № 8. – С. 128–130.
14. Патент № 2178710 Российская Федерация, МПК 7А 61К 38/08 А. Индивидуальные вещества, полученные на основе химического взаимодействия дисульфидсодержащих пептидов с производными пуриновых или пиримидиновых оснований, фармацевтические композиции и препараты на их основе, способы их применения для лечения инфекционных заболеваний и профилактики осложнений / Л.А. Кожемякин, А.Л. Кожемякин; опубл. 08.02.2001, БИ № 02.
15. Шабанов, П.Д. Психофармакология / П.Д. Шабанов. – СПб.: Элби-СПб, 2008. – 416 с.
16. Шабанов, П.Д. Фармакология пептидных препаратов / П.Д. Шабанов // Мед. акад. журн. – 2008. – Т. 8, № 4. – С. 3–23.
17. Brendan, M.W. Effects of prolonged ethanol vapor exposure on forced swim behavior, and neuropeptide Y and corticotropin-releasing factor levels in rat brains / M.W. Brendan [et al.] // Alcohol. – 2010. – Vol. 44. – P. 487–493.
18. Ehrlich, D. Effects of long-term moderate ethanol and cholesterol on cognition, cholinergic neurons, inflammation, and vascular

- impairment in rats / D. Ehrlich, M. Pirchl, C. Humpel // Neuroscience. – 2012. – Vol. 205. – P. 154–166.
19. García-Moreno, L. Acute and chronic ethanol intake: Effects on spatial and non-spatial memory in rats / L. M. García-Moreno, J. M. Cimadevilla // Alcohol. – 2012. – Vol. 46. – P. 757–762.
20. Irwin, C. The effects of dehydration, moderate alcohol consumption, and rehydration on cognitive functions / C. Irwin [et al.] // Alcohol. – 2013. – Vol. 47. – P. 203–213.
21. Sewald, N. Peptides: chemistry and biology / N. Sewald, H. Jakubke. – Wiley-VCH, 2002. – 543 p.
22. Shih-Jen, T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4–10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome / T. Shih-Jen // Med. hypotheses. – 2007. – Vol. 68. – P. 1144–1146.
23. Witt, E.D. Research on alcohol and adolescent brain development: opportunities and future directions / E.D. Witt // Alcohol. – 2010. – Vol. 44. – P. 119–124.
24. Zaridze, D. Alcohol and cause-specific mortality in Russia: a retrospective case – control study of 48 557 adult deaths / D. Zaridze [et al.] // Lancet. – 2009. – Vol. 373. – P. 2201–2214.

A.N. Grebenyuk, V.L. Reynyuk, D.A. Halyutin, A.A. Hovpachev, E.V. Davydova

### Estimation of efficacy of peptides as correctional mean of functional disorders of central nervous system caused by extremely acute poisoning with ethanol application evaluation

**Abstract.** *Acute ethanol poisonings come to a leading place among everyday poisonings in Russia. Alcohol once tasted disturbs higher nervous activity functions which are evident both in a short space of time and during the long-term period after intoxication. Research of new medications which would allow carrying out correction or treatment of higher nervous activity imbalance at acute alcoholic intoxication is urgent. Comparative estimation of peptides preparations (semax and molixan) as the correction mean of functional disorders of the central nervous system (memory, training processes and motility) in acute poisoning with ethanol is submitted. It was found that ethanol causes memory impairment, rats training processes and motility disturbance within two weeks after intoxication onset. Application of semax, molixan and their combinations improved training ability, memory, level of exercise tolerance and coordination of poisoned rats. Efficacy of treatment by semax, molixan and their combinations didn't differ.*

**Key words:** *ethanol, molixan, semax, memory, training, exercise tolerance, coordination.*

Контактный телефон: 8 (904) 513-82-99; e-mail: vladton@mail.ru