

Н.А. Волошин, И.А. Мазур, Е.А. Григорьева, И.Ф. Беленичев, Л.И. Кучеренко

## Постнатальное развитие крыс после применения Тиоцетама во время беременности

Запорожский государственный медицинский университет,  
НПО «Фарматрон», г. Запорожье

**Ключевые слова:** Тиоцетам, условный рефлекс пассивного избегания, постнатальное развитие.

Установлено, что введение терапевтических доз Тиоцетама независимо от лекарственной формы не оказывает негативного влияния на показатели постнатального развития потомства: раннюю выживаемость, физическое и психическое развитие, формирование сенсорно-двигательных рефлексов, эмоциональное поведение, константы нейрометаболического обмена, благоприятно воздействует на формирование условного рефлекса пассивного избегания у потомства, характеризующего когнитивные функции ЦНС. Тиоцетам может быть рекомендован для применения в акушерско-гинекологической практике для профилактики перинатальных повреждений центральной нервной системы у плода.

### Післянатальний розвиток щурів після введення Тиоцетаму протягом вагітності

М.А. Волошин, І.А. Мазур, О.А. Григор'єва, І.Ф. Беленічев, Л.І. Кучеренко

Встановлено, що введення терапевтичних доз Тиоцетаму протягом вагітності незалежно від лікарської форми не впливає на показники післянатального розвитку потомства: ранню виживаність, фізичний та психічний розвиток, формування сенсорно-рухових рефлексів, емоційну поведінку, константи нейрометаболічного обміну, сприятливо діє на формування умовного рефлексу пасивного оминання у потомства, що характеризує когнітивні функції ЦНС. Тиоцетам може бути рекомендований для профілактики перинатальних пошкоджень ЦНС у плода.

**Ключові слова:** Тиоцетам, умовний рефлекс пасивного оминання, післянатальний розвиток.

*Патологія.* – 2012. – №3 (26). – С. 45–49

### Postnatal development of rats under Thiocetam introduction during pregnancy

N.A. Voloshyn, I.A. Mazur, E.A. Grigoryeva, I.F. Belenichev, L.I. Kucherenko

It is determined that introduction of Thiocetam during pregnancy in therapeutic dose notwithstanding on dosage form (tablets or solution for injections) doesn't influence on postnatal development of rats. Thiocetam can be recommended for prophylaxis of perinatal injuries of CNS in fetus.

**Key words:** thiocetam, postnatal development, conditioned reflex of passive avoidance.

*Pathologia.* 2012; №3 (26): 45–49

Охрана здоровья матери и ребенка является приоритетной проблемой современной медицины. Вопросы сохранения здоровья детского населения нашли отражение во многих законодательных актах и государственных программах. Кабинет Министров Украины утвердил межотраслевую комплексную программу «Здоровье нации», в которой главным направлением является укрепление здоровья молодого поколения, что отвечает стратегии ВОЗ «Здоровье для всех».

В структуре заболеваемости новорожденных детей на первом месте находится гипотрофия (10,4%), на втором – перинатальные повреждения нервной системы различного генеза (8,3%). Перинатальная асфиксия и ее клиническое проявление – гипоксически-ишемическое поражение ЦНС – является одной из основных причин поражения головного мозга и развития неврологических осложнений у новорожденных [17]. Перинатальные повреждения ЦНС нередко трансформируются в ДЦП, судороги различного генеза, которые способствуют отставанию психического развития ребенка [5,9,14]. Это требует своевременной профилактики указанных состояний. Своевременная квалифицированная лечебно-

диагностическая помощь новорожденным с поражением ЦНС в 75–80% случаев препятствует формированию органического дефекта, приводящего к инвалидности [5].

Гравидопротекторы – лекарственные препараты, сохраняющие беременность и обеспечивающие благоприятные условия для фетогенеза. Фармакологическая характеристика этой группы препаратов включает антиоксидантное, антигипоксическое, токолитическое, эндотелиопротекторное, антиагрегантное действие. Поиск новых препаратов, обладающих гравидопротекторным и нейропротекторным свойством – актуальная проблема медицины. Тиоцетам – комбинированный препарат церебропротекторного действия, состоящий из 50 мг тиотриазолина и 200 мг пирацетама, проявляющий широкий спектр антиоксидантных, противоишемических, церебропротекторных и ноотропных эффектов, разработан НПО «Фарматрон», г. Запорожье, под руководством заслуженного деятеля науки и техники Украины, профессора И.А. Мазура [3,10,13,15]. При исследовании безвредности препарата Тиоцетам в виде таблеток и инъекционного раствора установлено, что таблетки и инъекционный раствор Тиоцетам не оказывают эмбрио-

токсического и тератогенного действия [4]. Высокая фармакологическая эффективность Тиоцетама при лечении патологии нервной системы у взрослых и детей [3,11,13] позволяет предположить возможность применения препарата в акушерско-гинекологической практике для профилактики поражения нервной системы у плода при развитии фето-плацентарной недостаточности.

### Цель работы

Изучить особенности постнатального развития крыс и реакции их нервной системы на действие различных лекарственных форм Тиоцетама после введения беременным самкам.

### Материалы и методы исследования

Влияние Тиоцетама на показатели постнатального развития крысят изучали на потомствах от 15 самок. Для работы отобраны крысы-самки и крысы-самцы линии Вистар массой 160–180 г, которые помещены в клетки в соотношении 1 самец на 5 самок. Крысы получены из питомника Института фармакологии и токсикологии АМН Украины. Всего смоделировано 20 «семей». Крыс содержали на стандартном рационе вивария. Наличие сперматозоидов в вагинальном мазке считали началом беременности.

Тиоцетам вводили самкам 1 раз в сутки с 1 дня и до окончания беременности. Таблетки Тиоцетам в эффективной дозе 250 мг/кг и промежуточной дозе 1250 мг/кг вводили внутрижелудочно, с помощью атравматического металлического зонда в виде суспензии на 1% крахмальной слизи. Контрольные животные получали внутрижелудочно 1% крахмальную слизь. Инъекционный раствор Тиоцетам вводили внутривентриально в эффективной дозе – 250 мг/кг (2 мл/кг), а контрольная группа самок получала в эти же сроки внутривентриально физиологический раствор.

После родов в каждом приплоде оставляли 10 новорожденных животных. В течение эксперимента изучали в динамике основные показатели их функционального роста и развития: покрытие шерстью, прорезывание зубов, открытие глаз.

Целостность физиологической реакции нервной системы крыс на модельные раздражители и после введения Тиоцетама оценивали в физиологических тестах с учетом ориентировочно-исследовательского эмоционального, стереотипного и двигательного компонентов по поведенческому атласу для грызунов [2]. Регистрировали показатели ориентировочно-исследовательских инстинктов в условиях «открытого поля» по количеству горизонтальных перемещений, вставаний на задние лапы, заглядываний в отверстие в полу. Различные сроки жизни потомства исследовали скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов в период вскармливания их самками.

Регистрировали такие показатели: переворачивание на плоскости (формирование рефлекса на 8 день жизни), негативный геотаксис (рефлекс формируется на 7 день, регистрируется по способности животного перемещаться из положения «голова вниз»), уклонение от обрыва

(формирование рефлекса на 9 день жизни), реакция на акустический стимул (рефлекс формируется на 132 день, регистрируют по двигательной реакции животного на звуковой сигнал 0,5 с после пребывания в звукоизоляционной камере), зрачковый рефлекс (формируется на 14 сутки) [1,8].

Исследовали показатели эмоционально-двигательного поведения новорожденных крыс – поворот в воздухе (на 17–20 сутки), удерживание на вращающемся цилиндре (на 14–20 сутки), ориентировочно-исследовательская активность (тест «открытое поле»), способность животного к запоминанию (тест «условная реакция пассивного избегания»). Влияние Тиоцетама на высшую нервную деятельность (ВНД) исследовали на модели однократного обучения – условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) [2] без применения амнезирующего фактора. Способность животного к запоминанию нанесенного электрошокового раздражения рассчитывали по разнице латентного времени до и после обучения (через 24 часа). Обучение крыс проводили в двухкамерной установке, состоящей из двух отсеков – светлого и темного. На различные сроки жизни крысу помещали в светлый отсек, фиксировали латентное время захода в темный отсек, где крыса получала удар током и выбегала в светлый отсек. Воспроизведение УРПИ проверяли через 24 часа. На 30 и 120 сутки жизни крысу помещали в светлый отсек, фиксировали латентное время захода в темный, где крыса получала удар током и выбегала в светлый. Воспроизведение УРПИ проверяли через 24 часа. О сохранности навыка судили по изменению латентного времени захода крысы в темный отсек. Также отмечали количество крыс, полностью не зашедших в темную камеру. В методологическую основу работы по изучению нейропротекторного эффекта Тиоцетама положены методические рекомендации «Доклиническое исследование лекарственных средств» [7].

По окончании эксперимента для биохимических исследований ткань лобной доли коры головного мозга гомогенизировали на холоде, в солевой изотонической среде (0,15 М КСl) при температуре 4°C, с помощью стеклянного гомогенизатора, в соотношении ткань – солевой раствор 1:40. После чего методом дифференциального центрифугирования выделяли цитозольную фракцию (15000g) при температуре 15°C (10 мин).

В тканях мозга определяли основные показатели углеводно-энергетического обмена – АТФ, гликогена, малата и лактата [16]. Количественные результаты обрабатывали методом вариационной статистики, результаты считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Внутрижелудочное введение Тиоцетама-таблеток в эффективной терапевтической дозе (250 мг/кг) и промежуточной дозе (1250 мг/кг), а также внутривентриальное введение Тиоцетама (инъекционного раствора, 250 мг/кг) беременным самкам в течение всего срока беременности на повлияло на выживаемость новорожденных в ранние сроки жизни. Так, анализируя данные выживаемости

крысят в ранние сроки после рождения, на которые приходится максимальная естественная смертность этого вида животных, можно заключить, что достоверных отличий между группами, матери которых получали Тиоцетам, и группами контроля, обнаружено не было (табл. 1).

Введение беременным самкам препарата Тиоцетам как в терапевтической, так и в промежуточной дозе не оказывало негативного воздействия на физическое и психическое развитие крысят. По основным показателям физического развития животные, матери которых получали Тиоцетам (таблетки и инъекционный раствор), не отставали от крысят контрольных групп. Масса тела экспериментальных животных достоверно не отличалась от массы тела животных контрольных групп на 7, 14, 21, 30, 80 и 120 сутки после рождения. Достоверные отличия между экспериментальными и контрольными группами по таким показателям физического развития крысят, как покрытие шерстью, прорезывание зубов и открытие глаз, отлипание ушной раковины и т.д. не определены. Данные, характеризующие дозревание основных сенсорно-двигательных рефлексов (переворачивание на плоскости, негативный геотаксис, уклонение обрыва, реакция на акустический стимул, обонятельный и зрачковый рефлексы), достоверно не отличались в экспериментальных и контрольных группах.

Достоверные отличия между контрольными группами и группами, получавших различные дозы Тиоцетама, по показателям, характеризующим эмоционально-двигательное поведение (мышечная сила, удерживание

на вращающемся стержне, поворот в воздухе, избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом) не определены.

Введение Тиоцетама-таблеток (250 мг/кг и 1250 мг/кг) и Тиоцетама-инъекционного раствора (250 мг/кг) беременным самкам не оказывало негативного влияния на ориентировочно-исследовательское поведение потомства на 120 сутки жизни.

Введение терапевтических доз Тиоцетама-таблеток и инъекционного раствора беременным самкам оказывало благоприятное воздействие на формирование у потомства условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ), характеризующего когнитивные функции ЦНС, через один месяц после рождения (табл. 2). Через 24 часа после обучения латентное время пассивного избегания болевого раздражения у потомства самок, получавших Тиоцетам в растворе, было на 7,4% больше, чем у контрольных крыс. Еще более длительное время не заходили в темный отсек камеры потомство самок, получавших Тиоцетам в таблетках: 165,8 с против 101,7 с ( $p \leq 0,05$ ) в контроле (табл.2).

Такая же положительная тенденция удлинения латентного периода нахождения крыс в светлом отсеке до их перехода в темный отсек, наблюдается на 120 сутки жизни у животных, матери которых получали во время беременности Тиоцетам, инъекционный раствор, и Тиоцетам-таблетки в терапевтической дозе 250 мг/кг (табл. 3). Латентный период условной реакции пассивного избегания в этих группах был достоверно больше на 32,9% и 61,7%, чем в соответствующих контрольных

Таблица 1

**Выживаемость крысят в ранние сроки после рождения**

Группа животных	Всего	Количество выживших крысят на различные сроки жизни (сутки)						
		1	2	3	4	5	6	7
Контрольная (введение физ. р-ра)	24	24	24	21	20	20	20	20
Тиоцетам, р-р (250 мг/кг)	24	24	24	22	21	21	21	21
Контрольная (введение 1% крахмальной слизи)	24	24	24	22	21	21	20	20
Тиоцетам, таблетки, (250 мг/кг)	24	24	24	22	22	21	21	21
Тиоцетам, таблетки, (1250, мг/кг)	24	24	24	20	20	20	20	20

Таблица 2

**Латентное время УРПИ у крыс на 30 сутки наблюдения**

Группа животных	Латентное время (с)			
	Латентное время до обучения, с	Латентное время после обучения, с	Δt, с	Увеличение латентного периода УРПИ по сравнению с контролем, %
Инъекционный раствор				
Контрольная (введение физ. р-ра)	21,2±4,8	121,1±9,1	99,9	
Тиоцетам, р-р (250 мг/кг)	14,1±3,3	130,1±2,7	116	+7,4
Таблетки				
Контрольная (введение 1% крахмальной слизи)	15,4±3,1	117,1±7,1	101,7	
Тиоцетам, таблетки, (250 мг/кг)	14,2±2,73	180,0±3,2*	165,8	+41,6
Тиоцетам, таблетки, (1250 мг/кг)	14,2±3,1	126,3±3,5	112,1	+10,2

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  по отношению к контрольной группе.

## Латентное время УРПИ у крыс на 120 сутки наблюдения

Группа животных	Латентное время (с)			
	Латентное время до обучения, с	Латентное время после обучения, с	$\Delta t$ , с	Увеличение латентного периода УРПИ по сравнению с контролем, %
Инъекционный раствор				
Контрольная (введение физ. р-ра)	18,2±3,5	128,1±5,2	109,9	
Тиоцетам, р-р (250 мг/кг)	11,0±1,7	157,0±3,4*	146	+32,9
Таблетки				
Контрольная (введение 1% крахмальной слизи)	12,7±2,4	123,1±3,1	110,4	
Тиоцетам, таблетки, (250 мг/кг)	8,6±1,54	187,1±5,78*	178,5	+61,7
Тиоцетам, таблетки, (1250 мг/кг)	7,4±2,3	134,7±16,2	127,3	+15,3

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  по отношению к контрольной группе.

группах (табл. 3). В группе животных, матери которых получали во время беременности Тиоцетам-таблетки в промежуточной дозе (1250 мг/кг), латентный период УРПИ не отличался от такового в контроле.

Латентный период пребывания в светлом отсеке камеры при тестировании является показателем, характеризующим степень запоминания крысой отрицательного опыта – удара током, который она приобрела в темном отсеке камеры во время первого его посещения при обучении. Животные, рожденные от самок, получавших Тиоцетам как в растворе, так и в таблетках, более длительно сохраняли память об отрицательном опыте.

При изучении основных биохимических показателей, характеризующих углеводно-энергетический обмен в тканях головного мозга животных, установлено полное отсутствие негативного влияния Тиоцетама, применяемого во время беременности, на показатели, характеризующие нейрометаболические процессы в головном мозге потомства крыс (табл. 4).

Ранее при исследовании безвредности препарата Тиоцетам в виде таблеток и инъекционного раствора установлено, что инъекционный раствор и таблетки

Тиоцетам не оказывают эмбриотоксического и тератогенного действия и могут применяться в клинике нервных болезней [4]. Настоящий раздел работы демонстрирует, что введение беременным крысам препарата Тиоцетам в таблетированной или инъекционной формах не влияет на показатели ранней выживаемости потомства. При этом препарат не только не оказывает нейротоксического действия, но и способствует удлинению латентного промежутка УРПИ потомства на 30 и 120 сутки после рождения. Полученные результаты положительного влияния на постнатальное развитие крыс после применения Тиоцетама во время беременности являются основой для разработки схем профилактики гипоксическо-ишемических поражений ЦНС плодов во время беременности, что является одной из основных причин поражения головного мозга и развития неврологических осложнений у новорожденных [17]. Перинатальные повреждения ЦНС, как правило, способствуют отставанию психического развития ребенка [9, 14]. Это требует своевременной профилактики и лечения указанных состояний у детей после рождения, и препарат Тиоцетам может занять достойное место в профилактике перинатальных повреждений ЦНС.

Таблица 4

## Показатели углеводно-энергетического обмена в тканях мозга крысят на 30 сутки наблюдения

Группа животных	АТФ, мкмоль/г ткани	Гликоген, мг/г ткани	Лактат, мкмоль/г ткани	Малат, мкмоль/г ткани	Пируват, мкмоль/г ткани
Контрольная (введение физ. р-ра)	2,83±0,07	3,62±0,11	2,77±0,11	0,42±0,02	0,28±0,01
Тиоцетам, р-р (250 мг/кг)	2,78±0,03	3,76±0,10	2,74±0,11	0,46±0,02	0,28±0,02
Контрольная (введение 1% крахмальной слизи)	2,82±0,03	3,77±0,11	2,80±0,11	0,47±0,02	0,27±0,01
Тиоцетам, таблетки, (250 мг/кг)	2,80±0,07	3,67±0,07	2,78±0,12	0,39±0,03	0,27±0,01
Тиоцетам, таблетки, (1250 мг/кг)	2,80±0,04	3,67±0,15	2,80±0,11	0,41±0,01	0,30±0,02

### Выводы

Введение терапевтических доз Тиоцетама независимо от лекарственной формы оказывает благоприятное воздействие на формирование условного рефлекса пассивного избегания у потомства, характеризующего когнитивные функции ЦНС.

Таблетки Тиоцетам, вводимые внутривентрикулярно на протяжении всего периода беременности в терапевтической и промежуточной дозах, и раствор для инъекций Тиоцетам, вводимый внутривентрикулярно на протяжении всего периода беременности в терапевтической дозе, не оказывали негативного влияния на показатели постнатального развития потомства: раннюю выживаемость, физическое и психическое развитие, формирование сенсорно-двигательных рефлексов, эмоциональное поведение, константы нейрометаболического обмена.

Таблетки и инъекционный раствор Тиоцетам могут быть рекомендованы для применения в акушерско-гинекологической практике для профилактики перинатальных повреждений центральной нервной системы у плода.

### Список литературы

1. *Абрамченко В.В.* Перинатальная фармакология / В.В. Абрамченко – СПб.: Логос, 1994. – 178 с.
2. *Буреш Я.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Буреш, Д.П. Хьюстон. – М.: Медицина, 1991. – 248 с.
3. *Волошин Н.А.* Тиотриазолин, тиоцетам, тиодарон в практике врача / Н.А. Волошин, В.А. Визир, И.Н. Волошина. – Запорожье: ЗДМУ, 2008. – 224 с.
4. *Волошин Н.А.* Изучение безвредности (тератогенного и эмбриотоксического действия) таблеток «Тиоцетам» / Н.А. Волошин, И.А. Мазур, Е.А. Григорьева // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, №3. – С. 64–68.
5. *Гойда Н.Г.* Стан та перспективи розвитку перинатальної допомоги на етапі реформування охорони здоров'я в Україні / Н.Г. Гойда // Перинатологія та педіатрія. – 1999. – №1. – С. 3–4.
6. *Громов О.А.* Нейрометаболическая фармакотерапия / Громов О.А.; Под ред. член-корр. РАМН Е. М. Бурцева. – М., 2000. – 85 с.
7. Доклиническое исследование лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. член-корр. АМН Украины А.В. Стефанова. – К.: Авицена, 2002. – 568 с.
8. *Дыбан А.П.* Раннее развитие млекопитающих / А.П. Дыбан – Л.: Наука, 1988. – 228 с.
9. *Евтушенко С.К.* О бережном подходе в лечении различных синдромов гипоксического поражения ЦНС / С.К. Евтушенко, Е.П. Шестова // Мат. 4-го Баварско-Украинского симп. – 1999.
10. Експериментальне дослідження ноотропної активності таблеток Ноотрил / І.Ф. Беленічев, І.А. Мазур, С.І. Коваленко, В.Р. Стець, М.А. Волошин // Експер. фізіол. та біохім. – 2002. – №1. – С. 7–11.
11. *Кузнецова С.М.* Влияние тиоцетама на функциональное состояние ЦНС у больных, перенесших ишемический инсульт / С.М. Кузнецова, В.В. Кузнецов, М.В. Воробей // Здоров'я України. – 2005. – №6. – С. 1–7.
12. *Лук'янова О.М.* Актуальні проблеми перинатології на сучасному етапі охорони здоров'я / О.М. Лук'янова // Педіатрія та перинатологія. – 2002. – №3. – С. 3–6.
13. Метаболитотропные препараты / И.А. Мазур, И.С. Чекман, И.Ф. Беленічев [и др.]. – Запорожье, 2007. – 309 с.
14. *Перфілов О.П.* Профілактика перинатальних уражень центральної нервової системи / О.П. Перфілов і співавт. // Соціальна педіатрія. – 2001. – С. 164–166.
15. Порівняльна оцінка антиоксидантної і протиішемічної дії тіотриазоліну і пірацетаму та їх комбінації за умов моделювання експериментальної ішемії головного мозку / І.Ф. Беленічев, І.А. Мазур, С.І. Коваленко, В.Р. Стець, М.А. Волошин // Експер. фізіол. та біохім. – 2001. – №4. – С. 59–65.
16. *Прохорова М.И.* Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. Прохоровой М.И. – Л.: Изд-во Лен. Унив., 1982. – 272 с.
17. *Шулько С.С.* Респіраторний дистрес-синдром новонароджених: проблеми та перспективи профілактики і лікування з позиції доказової медицини / С.С. Шулько, Т.В. Кончаковська // Мистецтво лікування. – 2001. – №2. – С. 50–53.

### Сведения об авторах:

Волошин Н.А., д. мед. н., профессор, заслуженный деятель науки и техники Украины, академик международной академии интегративной антропологии, зав. каф. анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии ЗГМУ.

Мазур И.А., д. фарм. н., профессор каф. фармацевтической химии ЗГМУ.

Григорьева Е.А., д. мед. н., доцент каф. анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии ЗГМУ.

Беленічев И.Ф., д. биол. н., профессор, глава регионального отделения Ассоциации фармакологов Украины, зав. каф. фармакологии и медицинской рецептуры ЗГМУ.

Кучеренко Л.И., д. фарм. н., доцент, зав. каф. фармацевтической химии ЗГМУ.

Надійшла в редакцію 25.09.2012 р.