

В. І. Жилюк¹, Г. О. Ушакова², Ю. В. Харченко¹, Д. В. Муравйова²

Стан мнестичних процесів і рівень білків клітинної адгезії (NCAM) у гіпокампі щурів за умов введення S-аденозил-L-метіоніну та пре/пробіотиків на тлі медикаментозно-індукованого ураження печінки

¹Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

²Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, м. Дніпро

Ключові слова: медикаментозний гепатит, S-аденозил-L-метіонін, пребіотики, пробіотики, мнестичні функції, білки клітинної адгезії, гіпокамп

Останніми роками дедалі більшу увагу приділяють медикаментозно-індукованим ураженням печінки (МІУП), які складають до 10 % від загального числа побічних реакцій, пов'язаних з використанням лікарських засобів. За даними ВООЗ, 50 з 1000 пацієнтів госпіталізують у зв'язку з медикаментозними ускладненнями [1–3]. Відповідно до аналізу інформації, наданої WEB-платформою LiverTox (<http://livertox.nlm.nih.gov>), з 671 лікарських засобів, доступних для аналізу, 353 (53 %) препарати мали опубліковані, переконливі дані про випадки їхньої гепатотоксичності [2]. Слід зазначити, що протитуберкульозні препарати відносяться до числа найгепатотоксичніших, а поширеність МІУП за хіміотерапії туберкульозу знаходиться в межах 5,4–67,7 %. Причому, ізоніазид, піразинамід і рифампіцин є найтоксичнішими агентами відносно печінки [3]. Зокрема, у дослідженнях, опублікованих у США в 2015 році, за аналізом понад 600 випадків у 12 клінічних закладах, 46 % МІУП були асоційовані з антимікробними лікарськими засобами, такими як антибіотики та протитуберкульозні препарати [3]. Причому сумісне застосування ізоніазиду та рифампіцину супроводжується ефектом взаємопотенціювання

токсичних властивостей цих засобів, що збільшує ризик суттєвого ушкодження печінки [4]. Небезпеку становить безсимптомний «субклінічний» перебіг лікарського гепатиту, коли подальший прийом цих засобів призводить до розвитку тяжкого медикаментозного гепатиту, який супроводжується жовтяницею та печінковою енцефалопатією [5, 6]. Слід зауважити, що когнітивний дефіцит, що спостерігається за печінковою енцефалопатією, є результатом змін синаптичної пластичності та медіаторної передачі внаслідок порушень процесів нейтралізації аміаку в організмі [7].

Протягом останнього десятиліття зібрано великий обсяг інформації щодо впливу протимікробних засобів на центральну нервову систему. Не виключено, що вплив рифампіцину та ізоніазиду на організм і, зокрема, на головний мозок, може бути опосередкований не лише їхньою гепатотоксичністю, але й здатністю викликати порушення балансу кишкової мікрофлори та розвитку дисбіозу, що чинить негативний вплив на перебіг енцефалопатії за токсичного ураження печінки [7, 8].

Тому дослідження порушень мнестичних функцій та нейрональної пластичності, а також ймовірні шляхи їхньої фармакологічної корекції, зокрема, за рахунок відновлення функції печінки та нормалізації мікробіоценозу кишечника, є актуальними і можуть розкрити нові ланки патогенезу та сприяти оптимізації терапії за цих умов.

Мета дослідження – вивчення впливу S-аденозил-L-метіоніну, пре/пробіотиків та їхнього сумісного застосування на мнестичні процеси та рівень білків клітинної адгезії в гіпокампі щурів за умов тривалого введення рифампіцину та ізоніазиду.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено на 68 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 180–220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗУ» (температура повітря – (22 ± 2) °C, світло/темрява: 12/12 год). Усі експериментальні процедури здійснювали згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках». Експериментальну модель токсичного МІУП відтворювали шляхом повторних внутрішньошлункових (в/ш) введень ізоніазиду та рифампіцину в дозах 50 мг/кг і 86 мг/кг маси тіла відповідно протягом 28 діб з використанням Полісорбату LAUROPAN T/80 (Італія) і дистильованої води [9]. Тварин було розподілено на п'ять груп ($n = 8$ у кожній). I – інтактна, II – контроль (МІУП). Щурам III групи протягом останніх 14 діб експерименту за 1 год до введення туберкулоstaticів внутрішньом'язово вводили S-аденозил L-метіонін («Гептрал®», Abbott Laboratories GmbH, S-ALM) у дозі 35 мг/кг. Щури IV групи в/ш отримували комбіновану терапію, що поєднувала пребіотик Лактулозу в дозі 2680 мг/кг («Нормазе®», Delta Medical Promotions AG) та пробіотик, що містить 4 млрд активних клітин (КОЕ): *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus 1* у дозі 1 КОЕ/кг («Йогурт», Pharmascience). Тваринам V групи проводили потрійну комбіновану фармако-терапію всіма засобами, які використовувалися в III і IV групах у відповідних дозах. Розрахунок доз проводили з урахуванням вищої терапевтичної дози для людини з використанням міжвидового коефіцієнта перерахунку доз людина/щури. Контрольним тваринам вводили аналогічний об'єм дистильованої води. Для оцінки впливу скополаміну на процеси навчання використали

значення показників груп тварин (інтактні, $n = 10$; МІУП, $n = 18$), які попередньо не отримували цей препарат з метою формування амнезії набутої навички.

Оцінку впливу досліджуваних засобів на процеси навчання проводили за допомогою тесту умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) [10]. На 28 добу від початку введення дослідних препаратів формували УРПУ. Для цього тварину розміщували в світлій половині камери. Після заходу щура в темний відсік і фіксації тривалості латентного періоду (ЛП₁) дверцята закривали і тварині через електрифіковану підлогу наносили 5 ударів струмом силою 1 мА з інтервалом 5 с і тривалістю кожного імпульсу 1 с. З метою формування амнезії навички за 30 хв до навчання внутрішньоочеревинно (в/о) вводили 0,05 % розчин скополаміну гідроброміду (Sigma, США) у дозі 0,8 мг/кг [11]. Оцінку впливу препаратів на процеси вводу інформації проводили на 29-ту добу за тривалістю ЛП₂ і кількістю тварин з відсутньою навичкою.

Усі дослідження проведені за кімнатного освітлення в часовому інтервалі від 12 до 17 год.

Через 24 год після останнього введення препаратів і тестування УРПУ, тварин виводили з експерименту методом цервікальної дислокації. Мозок щурів вилучали, очищали від оболонок і капілярів, виділяли гіпокамп. Гомогенізацію тканини цього мозкового утворення проводили за + 4 °C у буфері, що вміщував трис-НСl – 25 ммоль/л (рН 7,4), ЕДТА – 1 ммоль/л, β-меркаптоетанол – 2 ммоль/л, фенілметилсульфонілфторид – 0,2 ммоль/л та мертіолят – 0,01 % у співвідношенні 1:10. Після центрифугування отримували цитозольну фракцію білка клітинної адгезії (sNCAM). Кількісний вміст NCAM визначали за допомогою інгібіторного методу імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням моноспецифічних антитіл щодо NCAM (Abscam, Англія) і відповідного очищеного білка як стандарту (Abnovo, США) [12]. Вміст NCAM характеризували відношенням його кількості в пробі до кількості загального білка (ЗБ)

у даному екстракті (мкг NCAM/мг ЗБ). Кількість ЗБ у фракції визначали за методом Бредфорда [13]. Вимірювання оптичної густини здійснювали на мікропланшетному фотометрі «Anthos 2010» за довжини хвилі 492 нм.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики за допомогою програми статистичного аналізу StatPlus, AnalystSoft Inc. Версія 6 (<http://www.analystsoft.com/ru/>). Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (M), їхніх похибок ($\pm m$), вірогідність різниці середніх арифметичних (p) розраховані за допомогою непараметричного – U-критерію Манна-Уїтні.

Усі експериментальні процедури здійснювали згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних досліджах» [14].

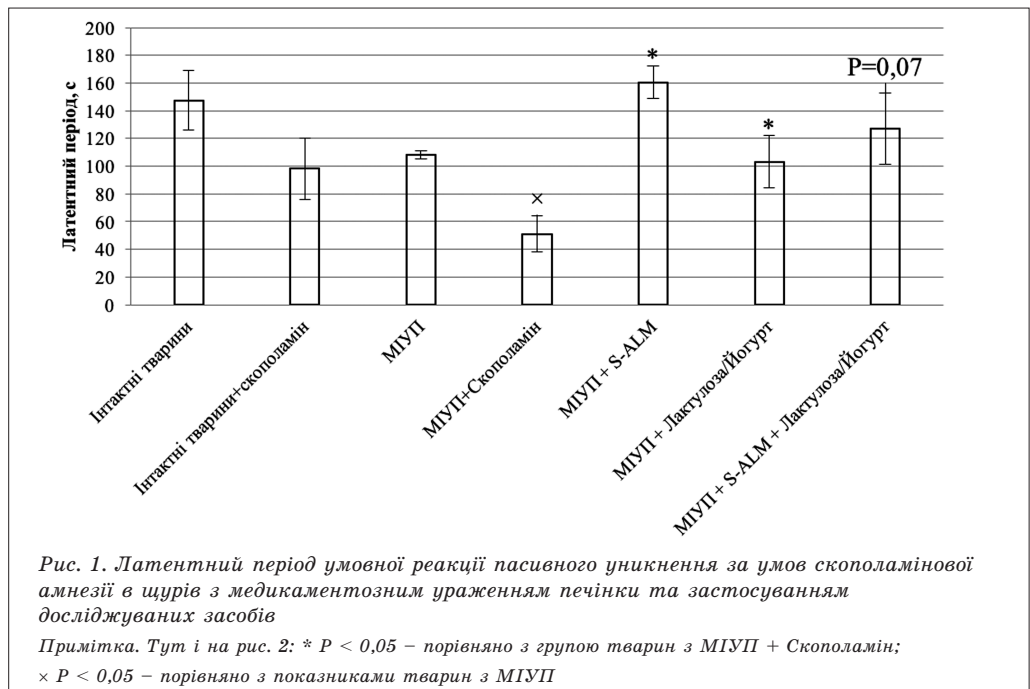
Результати та їх обговорення. Результати отриманого дослідження свідчать, що ЛП₁ заходу тварин у темний відсік на етапі введення інформації суттєво не відрізнявся в усіх дослідних групах, що вказувало на гомогенність груп і відсутність впливу МІУП на природну схильність щурів до темного простору.

Водночас у разі тестування тварин через 24 год після навчання умовній

навичці за умов попереднього введення скополаміну спостерігали певні відмінності даного показника (рис. 1). Встановлено, що введення скополаміну інтактним тваринам призводило до зменшення тривалості ЛП₂ на 33,4 % ($P > 0,05$) порівняно зі значеннями показників групи щурів, які не піддавалися впливу амнезуючого фактора.

Водночас у групі тварин з МІУП використання скополаміну поглиблювало прояви когнітивного дефіциту, і це вказувало на значення порушень, які виникають внаслідок впливу ізоніазиду та рифампіцину як додаткового чинника, здатного поглиблювати вплив скополаміну. Показники ЛП₂ у цій групі були на 52,8 % ($P = 0,0486$) нижчими порівняно з групою тварин з МІУП, які не отримували скополамін (рис. 1), а рівень амнезії в тварин склав 100 % (рис. 2).

Необхідно зазначити, що курсове застосування S-ALM на тлі тривалого введення рифампіцину та ізоніазиду суттєво знижувало амнестичний ефект скополаміну на 29 добу, що проявлялося суттєвим збільшенням ЛП₂ у 3,14 рази ($P = 0,027$) порівняно з групою тварин з ураженням печінки (рис. 1). Водночас число тварин з набутою навичкою складало 62,5 % ($P = 0,007$) (рис. 2).



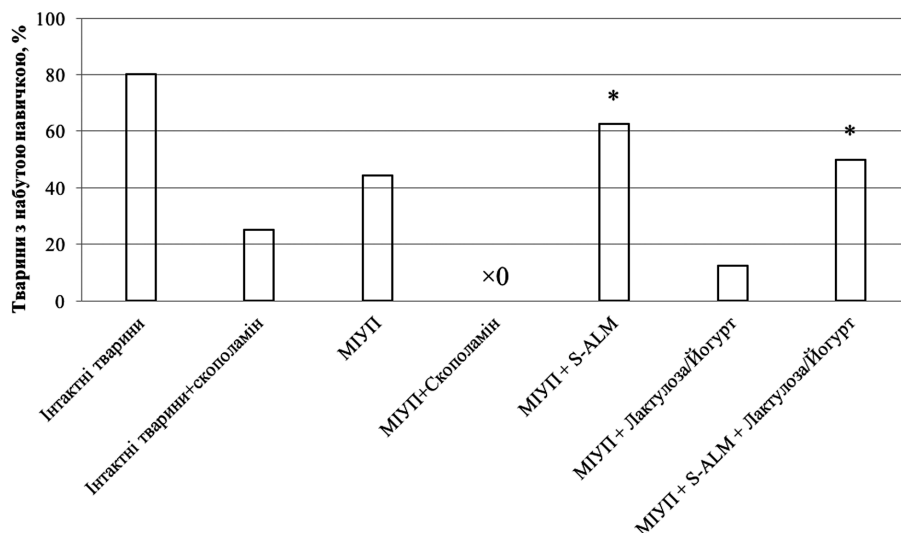


Рис 2. Відсоток тварин з набутою навичкою умовної реакції пасивного уникнення за умов скополамінової амнезії в щурів з медикаментозним ураженням печінки та застосуванням досліджуваних засобів

Характерно, що сумісне використання Йогурту та Лактулози також здійснювало позитивний вплив на процеси засвоєння інформації. Однак дія цієї комбінації засобів за умов впливу амнезуючого чинника та медикаментозного ураження печінки виявлялася переважно лише статистично значимим зростанням ЛП₂ у 2,02 разу ($P = 0,046$) порівняно з групою МІУП, та активність цієї комбінації значно поступалася монотерапії S-ALM за числом тварин з набутою умовною навичкою та відповідала значенням групи контролю (рис. 2).

Слід зазначити, що за сумісного застосування S аденозил-L-метіоніну з пребіотиком Лактулозою та пробіотиком Йогуртом характерною була відсутність значимого впливу на амнестичний ефект скополаміну на етапі введення інформації за показником тривалості латентного періоду (рис. 1). Отримані значення в цієї групи тварин вірогідно не відрізнялися ($P = 0,074$) від показників групи тварин з відтвореною патологією, хоча й у 2,49 разу були вищими, ніж у групи порівняння (рис. 1). За цих умов число тварин з набутою навичкою складало 50 % ($P = 0,021$) порівняно з тваринами групи МІУП (рис. 2).

У ході дослідження встановлено, що порушення мнестичних процесів у дослідних тварин з МІУП було асоційо-

ване зі зміною вмісту цитозольної фракції білка клітинної адгезії, отриманої з гіпокампа, що характеризувалася зменшенням цього маркера на 14 % ($P = 0,045$) порівняно з інтактними тваринами (таблиця). За цих умов рівні загального білка в тканині гіпокампа суттєво не відрізнялися.

На відміну від групи тварин з відтвореним в експерименті МІУП, у дослідних групах з експериментальною фармакотерапією значення показників цитоплазматичної фракції ЗБ значимо зростали (таблиця). Статистично достовірні та співставні значення NSAM зафіксовані у III і IV групах – збільшення на 38,7 % ($P = 0,004$) і 39,6 % ($P = 0,004$) порівняно з групою тварин з МІУП.

Отже, проведені дослідження дозволили встановити певні відповідності між порушеннями мнестичних функцій і рівнем цитоплазматичної форми NSAM у гіпокампі, що може свідчити про розвиток енцефалопатії в разі порушень функції печінки за умов тривалого застосування гепатотоксикантів.

Відомо, що печінкова енцефалопатія асоційована з високою активністю ГАМК-ергічної системи мозку внаслідок збільшення концентрації ГАМК, підвищення експресії ГАМК-рецепторів і збільшенням продукції нейростероїдів, зокрема алопрегнанолону [4, 15,

Відносний вміст цитоплазматичної форми білків клітинної адгезії та кількість загального білка в гіпокампі щурів з медикаментозним ураженням печінки та застосуванням досліджуваних засобів ($M \pm m$)

Група тварин	Білки клітинної адгезії, мкг/загальний білок, мг	Загальний білок, мг/мл
Інтактні щури (n = 6)	10,30 ± 0,529	1,060 ± 0,069
Контроль (медикаментозно-індуковане ураження печінки, n = 6)	8,850 ± 0,296*	1,150 ± 0,085
Медикаментозно-індуковане ураження печінки + S-аденозил-L-метіонін (n = 6)	12,280 ± 0,777*	5,290 ± 0,749*
Медикаментозно-індуковане ураження печінки + Лактулоза/Йогурт (n = 6)	12,360 ± 0,417*	5,590 ± 0,492*
Медикаментозно-індуковане ураження печінки + S-аденозил-L-метіонін / Лактулоза/Йогурт (n = 5)	9,480 ± 0,389*	4,840 ± 0,267*

Примітка. * $P < 0,01$ – порівняно з показником тварин з МІУП, * $P < 0,05$ – порівняно з групою інтактних тварин.

16]. Водночас за відповідних умов спостерігається зниження глутаматергічної нейротрансмісії, а порушення процесів пам'яті та навчання може бути пов'язане з пригніченням регуляторної ланки глутамат-азоту оксид-цГМФ у гіпокампі у відповідь на гіперамонемію чи зростання рівнів дофаміну [7, 17–19].

Розвиток і життєздатність нейронів мають величезне значення для нормального розвитку та функціонування мозку. NCAM відіграють важливу роль у регуляції диференціації та міграції нейронів, беруть участь у взаємодії з факторами росту й рецепторами факторів росту, механізмах регулювання мембранного потенціалу, який визначає збудливість цих клітин [20, 21]. Також вони впливають на синаптичну пластичність і когнітивні процеси в зрілому мозку, короточасну пластичність вже існуючих синапсів і тривалу пластичність, що пов'язана з елімінацією старих та утворенням нових синапсів. За сучасними уявленнями про функціональну роль NCAM, блокування функцій даних протеїнів може призвести до когнітивних і емоційних порушень, у тому числі до зміни сприйняття запаху, пам'яті, слуху, посилення тривожності й орієнтації в просторі та ін. [22].

Отримані дані дозволяють зробити заключення, що зміни рівнів NCAM у

гіпокампі, який є відповідальним за пізнавальні процеси, навчання та збереження умовних навичок, мають відношення до проявів ноотропного потенціалу насамперед гепатопротектора S-аденозил-L-метіоніну. Це може свідчити про те, що корекція функції печінки має позитивний вплив на когнітивні функції за умов експериментально відтвореного ураження цього органа протитуберкульозними засобами. Відмічений перерозподіл цитоплазматичної форми NCAM у гіпокампі може бути викликаний зміною адгезії клітин у цій ділянці мозку для запобігання синаптичного дефіциту, покращання процесів вводу та консолідації пам'яті (тобто, переходу короточасної пам'яті в довготривалу). Імовірно, це компенсаторний механізм забезпечення синаптичної пластичності. Цілком можливо, що відновлення мікробної рівноваги в кишечнику за умов тривалого використання туберкулостатиків також може чинити позитивний вплив, однак, отримані результати вказують на недостатній потенціал сумісного впливу пре- та пробіотика на порушення мнестичної функції за даних умов. Також слід зазначити, що певний інтерес становлять результати, зафіксовані в разі використання комбінації всіх дослідних препаратів, адже за різних шляхів введення препаратів не спостеріга-

лося ефекту посилення кінцевого фармакологічного ефекту, а наявний антиамнестичний потенціал ймовірно опосередковується активністю S-ALM. Для встановлення можливих причин виявлених ефектів необхідні подальші дослідження.

Висновки

1. Тривале введення гепатотоксикантів – рифампіцину й ізоніазиду призводить до порушень мнестичних функцій та зниження вмісту білків нейрональної адгезії в гіпокампі дослідних тварин.

2. Повторне, протягом 14 діб, введення S-аденозил-L-метіоніну покращує процеси навчання за умов введення скополаміну та сприяє компенсаторному збільшенню цитоплазматичної форми NCAM у гіпокампі.
3. Корекція стану мікробіоти кишечника чинить позитивний вплив на мнестичні функції, однак за своїм потенціалом поступається активності гепатопротектора – S-аденозил-L-метіоніну.
4. Сумісне використання пребіотика та пробіотика суттєво не змінює ноотропні властивості S-аденозил-L-метіоніну.

1. Zhuravlyova L. V., Shekhovtsova I. O. The drug induced liver injury: tactics of diagnosis and treatment. *Modern Gastroenterology. J.* 2018. V. 99, № 1. P. 47–52.
2. Risk Factors for Development of Cholestatic Drug-Induced Liver Injury: Inhibition of Hepatic Basolateral Bile Acid Transporters Multidrug Resistance-Associated Proteins 3 and 4 Drug. K. Kathleen, C. F. Brian, N. Ida et al. *Metab Dispos. J.* 2014. V. 42, № 4. P. 665–674.
3. Einar S. B. Hepatotoxicity by Drugs: The Most Common Implicated Agents *Int. J. Mol. Sci.* 2016. V. 17, № 2. P. 224.
4. Potentiating effect of rifampicin on methimazole induced hepatotoxicity in mice. Z. Hakim, A. Waheed, S. Bakhtiar et al. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences (PJPS).* 2018. V. 31, № 6. P. 2373–2377.
5. Rozmaritsa N. O., Alexeeva I. M., Chekman I. S. Isoniazid-induced hepatotoxicity. *Modern problems of toxicology.* 2008. V. 68, № 4. P. 38–41.
6. Quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy. R. Lorenzo, N. Silvia, G. Stefania et al. *World J Gastroenterol.* 2018. V. 24, № 48. P. 5446–5453.
7. Victoria L., Gurkarminder S., Sharon De M. Recent advances in hepatic encephalopathy. Version 1. F1000Res. 2017. V. 1, № 6. P. 1637.
8. Longitudinal profiling reveals a persistent intestinal dysbiosis triggered by conventional anti-tuberculosis therapy. N. Sivaranjani, M. Mamoudou, Y. Wuxing et al. *Microbiome.* 2017. V. 71, № 5. P. 71.
9. Hepatoprotective effect of experimental polyvitamin composition under isoniazid and rifampicin dependent induction of cytochrome p-450 2e1. L. G. Berezhna, V. N. Kovalenko, A. M. Shayakhmetova et al. *Modern problems of Toxicology. J.* 2005. V. 48, № 3. P. 54–58.
10. Радионова К. С., Бельник А. П., Островская Р. У. Оригинальный ноотропный препарат «Ноопепт» устраняет дефицит памяти, вызванный блокадой М- и Н-холинорецепторов у крыс. *Бюлл. эксл. биол. и мед.* 2008. Т. 146, № 7. P. 65–68.
11. Elrod K., Buccafusco J. J. An evaluation of the mechanism of scopolamine-induced impairment in two passive avoidance protocols. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1988. V. 29, № 1. P. 15–21.
12. Нго Т. Т., Ленхофф Г. М., Яклич А. Иммуноферментный анализ. Москва : Мир, 1988. 444 с.
13. Bradford M. Rapid and sensitive methods for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1985. № 72. P. 248–254.
14. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідах. *Експерим. та клін. фізіологія і біохімія.* 2003. № 2 (22). С. 108–109
15. Palomero-Gallagher N., Zilles K. Neurotransmitter receptor alterations in hepatic encephalopathy: a review. *Arch Biochem Biophys.* 2013. V. 536, № 2. P. 109–21.
16. Butterworth R. F. Neurosteroids in hepatic encephalopathy: Novel insights and new therapeutic opportunities. *J. Steroid Biochem Mol Biol.* 2016. V. 160. P. 94–97.
17. Pregnenolone sulfate restores the glutamate-nitric-oxide-cGMP pathway and extracellular GABA in cerebellum and learning and motor coordination in hyperammonemic rats. A. Gonzalez-Usano, O. Cauli, A. Agusti et al. *ACS Chem Neurosci.* 2014. V. 5, № 2. P. 100–105.
18. Elevated intracranial dopamine impairs the glutamate nitric oxide cyclic guanosine monophosphate pathway in cortical astrocytes in rats with minimal hepatic encephalopathy. S. Ding, W. Huang, Y. Ye et al. *Mol Med Rep.* 2014. V. 10, № 3. P. 1215–24.
19. Chatterjee M., Schild D., Teunissen C. E. Contactins in the central nervous system: role in health and disease. *Neural Regeneration Research.* 2019. V. 14, № 2. P. 206–216.
20. Hübschmann M. V., Skladchikova G. The role of ATP in the regulation of NCAM function. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2010. V. 663. P. 81–91.

21. The neural cell adhesion molecule is involved in the metastatic capacity in a murine model of lung cancer. P. B. Campodonico, E. D. Bal de Kier Joffe, A. J. Urtreger et al. *Molecular Carcinogenesis*. 2010. V. 49, № 4. P. 386–97.
22. Bisaz R., Conboy L., Sandi C. Learning under stress: A role for the neural cell adhesion molecule NCAM. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2009. V. 91. P. 333–342.

В. І. Жилюк, Г. О. Ушакова, Ю. В. Харченко, Д. В. Муравйова
Стан мнестичних процесів і рівень білків клітинної адгезії (NCAM) у гіпокампі щурів за умов введення S-аденозил-L-метіоніну та пре/пробіотиків на тлі медикаментозно-індукованого ураження печінки

Мета дослідження – вивчення впливу S-аденозил-L-метіоніну, пре/пробіотиків та їхнього сумісного застосування на мнестичні процеси та рівень білків клітинної адгезії (NCAM) у гіпокампі щурів за умов тривалого введення рифампіцину та ізоніазиду.

Дослідження проводили на 68 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 180–220 г. Експериментальну модель токсичного медикаментозно-індукованого ураження печінки (МІУП) відтворювали шляхом повторних внутрішньошлункових (в/ш) введенень ізоніазиду та рифампіцину у дозах 50 мг/кг і 86 мг/кг маси тіла відповідно протягом 28 діб. Тварин було розподілено на п'ять груп (n = 8 у кожній). I – інтактна, II – контроль (МІУП). Щурам III групи протягом останніх 14 діб експерименту за 1 год до введення туберкулостатиків внутрішньом'язово вводили S-аденозил-L-метіонін у дозі 35 мг/кг. Щури IV групи в/ш отримували комбіновану терапію, що поєднувала пробіотик Лактулозу в дозі 2680 мг/кг і пробіотик, що містить 4 млрд активних клітин (KYO): *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* у дозі 1 KYO/кг. Тваринам V групи проводили потрібну комбіновану фармакотерапію з усіма препаратами, які застосовували в III і IV групах у відповідних дозах. Ноотропну активність оцінювали в тесті умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) за умов введення скополаміну. Для оцінки впливу скополаміну на процеси навчання використані значення показників груп тварин (інтактні, n = 10; МІУП, n = 18), які попередньо не отримували цей препарат. Кількісний уміст NCAM визначали за допомогою інгібіторного методу імуноферментного аналізу з використанням моноспецифічних антитіл щодо NCAM (Abscam, Англія) і відповідного очищеного білка як стандарту (Abnovo, США) у цитозольній фракції гомогенату гіпокампа. Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики за допомогою програми статистичного аналізу StatPlus, AnalystSoft Inc. Версія 6 (<http://www.analystsoft.com/ru/>).

Результати експериментів свідчать про те, що курсове введення S-аденозил-L-метіоніну покращувало процеси навчання за умов введення скополаміну, що проявлялося суттєвим збільшенням латентного періоду в 3,14 разу (P = 0,027) порівняно з групою тварин з МІУП, а число тварин з набутою навичкою складало 62,5 % (P = 0,007). При цьому за умов введення цього препарату спостерігалося зростання на 38,7 % (P = 0,004) рівнів цитоплазматичної форми NCAM у гіпокампі, яке ймовірно мало компенсаторний характер. Характерно, що корекція стану мікробіоти кишечника також може чинити позитивний вплив на мнестичні функції за умов тривалого введення туберкулостатиків, однак за своїм ноотропним потенціалом комбінація Лактулоза/Йогурт поступалася S-аденозил-L-метіоніну, хоча рівні NCAM у гіпокампі зростали на 39,6 % (P = 0,004) порівняно з групою тварин з МІУП. Слід зазначити, що сумісне застосування пребіотика та пробіотика з S-аденозил-L-метіоніном не супроводжувалося підвищенням ноотропної активності.

Отримані дані експериментально обґрунтовують застосування насамперед S-аденозил-L-метіоніну, а також пре/пробіотиків як перспективних засобів корекції когнітивних порушень за медикаментозних гепатитів. Необхідні подальші дослідження щодо можливості комбінованого використання зазначених засобів за умов вказаної патології.

Ключові слова: медикаментозний гепатит, S-аденозил-L-метіонін, пребіотики, пробіотики, мнестичні функції, білки клітинної адгезії, гіпокамп

В. И. Жилюк, Г. А. Ушакова, Ю. В. Харченко, Д. В. Муравьева
Состояние мнестических процессов и уровень белков клеточной адгезии (NCAM) в гиппокампе крыс в условиях введения S-аденозил-L-метионина и пре/пробиотиков на фоне медикаментозно-индуцированного поражения печени

Цель исследования – изучение влияния S-аденозил-L-метионина, пре/пробиотиков и их совместного применения на мнестические процессы и уровень белков клеточной адгезии (NCAM) в гиппокампе крыс в условиях длительного введения рифампицина и изониазида.

Исследования проводили на 68 белых крысах-самцах линии Wistar массой 180–220 г. Экспериментальную модель токсического медикаментозного-индуцированного поражения печени (МИПП) воспроизводили путем внутримышечного (в/ж) введения изониазида и рифампицина в дозах 50 мг / кг и 86 мг / кг массы тела соответственно в течение 28 суток. Животные были распределены

на пять групп (n = 8 в каждой). I – интактная, II – контроль (МИПП). Крысам III группы в течение последних 14 суток эксперимента за 1 час до введения туберкулостатиков внутримышечно вводили S-аденозил-L-метионин в дозе 35 мг/кг. Крысы IV группы в/ж получали терапию, которая сочетала пребиотик Лактулозу в дозе 2680 мг/кг и пробиотик, содержащий 4 млрд активных клеток (КОЕ): *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus subspru*, *Lactobacillus subspru. Bulgaricus* в дозе 1 КОЕ/кг. В V группе животных проводили комбинированную фармакотерапию с использованием трех препаратов, применяемых в III и IV группах в соответствующих дозах. Ноотропную активность оценивали в тесте условной реакции пассивного избегания при введении скополамина. Для оценки влияния скополамина на процессы обучения использовали значения групп животных (интактные, n = 10; МИПП, n = 18), не получавших этот препарат предварительно. Содержание NCAM определяли с помощью ингибиторного метода иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител против NCAM (Abcam, Англия) и соответственно очищенного белка как стандарта (Abnova, США) в цитозольной фракции гомогената гиппокампа. Полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с помощью программы статистического анализа StatPlus, AnalystSoft Inc., версия 6 (<http://www.analystsoft.com/ru/>).

Результаты исследований свидетельствуют о том, что S-аденозил-L-метионин улучшал процессы обучения в условиях введения скополамина, что проявлялось существенным увеличением уровня латентного периода в 3,14 раза (P = 0,027) в сравнении с группой МИПП, а число животных с приобретенным навыком составляло 62,5 % (P = 0,007). Одновременно в условиях введения этого препарата наблюдалось увеличение на 38,7 % (P = 0,004) уровня цитоплазматической формы NCAM в гиппокампе, который, вероятно, носил компенсаторный характер. Характерно, что коррекция состояния микробиоты кишечника также оказывает положительное влияние на мнестические функции в условиях медикаментозного гепатита, однако по своей ноотропной активности комбинация Лактулоза/Йогурт уступала S-аденозил-L-метионину, несмотря на то, что уровень NCAM в гиппокампе был на 39,6 % (P = 0,004) выше значений у животных с МИПП. Следует отметить, что совместное использование пребиотика/пробиотика вместе с S-аденозил-L-метионином не сопровождалось усилением ноотропной активности.

Полученные данные являются экспериментальным обоснованием применения S-аденозил-L-метионина, а также пре/пробиотиков, как перспективных средств коррекции когнитивных нарушений при медикаментозных гепатитах. Необходимы дальнейшие исследования, связанные с возможностью совместного использования препаратов при этой патологии.

Ключевые слова: медикаментозный гепатит, S-аденозил-L-метионин, пребиотики, пробиотики, мнестические функции, белки клеточной адгезии, гиппокамп

V. I. Zhyliuk, G. A. Ushakova, Yu. V. Kharchenko, D. V. Muravyova
Mnestic processes state and neural cell adhesion molecules (NCAM) levels in rat hippocampus at administration of S-adenosyl-L-methionin and pre/probiotics under drug-induced liver injury

The aim of the research was to study the effect of S-adenosyl-L-methionin, pre/probiotics, and their combined use on mnestic processes and of NCAM level in the rat hippocampus under long term rifampicin and isoniazid administration.

Studies were performed on 68 Wistar male rats weighing 180–220 g. An experimental model of toxic drug-induced liver injury (DILI) was reproduced by repeated intragastric administration of isoniazid and rifampicin at doses of 50 mg/kg and 86 mg/kg body weight respectively for 28 days. Animals were divided into five groups (n = 8 each). I – intact, II – control (DILI). The rats of group III were intramuscularly injected with S-adenosyl-L-methionine at a dose of 35 mg/kg one hour before the administration of tuberculostatic drugs during the last 14 days of the experiment. The rats of group IV received a combination therapy of prebiotic Lactulose at a dose of 2680 mg/kg and a probiotic containing 4 billion active cells (CFU): *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus subspru*, *Lactobacillus subspru. Bulgaricus* at a dose of 1 CFU/kg. In group V triple combined pharmacotherapy was carried out by the drugs used in the III and IV groups in appropriate doses. Nootropic activity was evaluated in the test of the conditioned response of passive avoidance with administration of scopolamine. To assess the effect of scopolamine on the learning processes, the values of animal groups (intact, n = 10; DILI, n = 18), which previously did not receive this drug, were used. The quantitative content of NCAM was defined by an ELISA inhibitory method using monoclonal antibodies against NCAM (Abcam, England) and, respectively, purified protein as a standard (Abnova, USA) in the cytosolic fraction of the hippocampus homogenate. The data obtained was processed by the method of variation statistics using the statistical analysis program StatPlus, AnalystSoft Inc., version 6 (<http://www.analystsoft.com/ru/>).

The results of experimental studies suggest that S-adenosyl-L-methionine improved learning processes at scopolamine administration, which was proved by a significant increase of latent period by 3,14 times (P = 0,027) in comparison with the group of animals from DILI, and the number of animals with acquired skill was 62,5 % (P = 0,007). At the same time, an increase by 38,7 % (P = 0,004) of cytoplasmic NCAM forms in the hippocampus was observed, which probably had a compensatory character. It is significant that the correction of the intestinal microbiota state also had a positive effect on mnemonic functions in

conditions of hepatitis with long term administration of tuberculostatics, however, the Lactulose/Yoghurt combination is inferior to S-adenosyl-L-methionine in its nootropic potential, despite the fact that the NCAM level in the hippocampus increased by 39,6 % ($P = 0,004$) compared with the group of animals from DIL. It should be noted that the combined use of prebiotic/probiotic along with S-adenosyl-L-methionine was not accompanied by an increase in nootropic activity.

The data obtained is an experimental substantiation for the use of S-adenosyl-L-methionine, as well as pre / probiotics, as promising means of cognitive impairment correction under drug-induced hepatitis, and is also the base of further research as to the possibility of the combined use of these drugs under such pathology.

Key words: drug-induced hepatitis, S-adenosyl-L-methionine, prebiotics, probiotics, mnestic functions, neural cell adhesion molecules, hippocampus

Надійшла: 15 травня 2019 р.

Прийнята до друку: 23 травня 2019 р.

Контактна особа: Жилюк Володимир Іванович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології і клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗУ», буд. 9, вул. Володимира Вернадського, м. Дніпро, 49044. Тел.: + 38 0 56 713 55 53.
Електронна пошта: zhylyuk@ua.fm