

**СРАВНИТЕЛНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ВЛИЯНИЕТО НА ЕТИФОКСИН И НАТРИЕВ
ВАЛПРОАТ ВЪРХУ ПРОЦЕСИТЕ НА ОБУЧЕНИЕ И ПАМЕТ И ЛОКОМОТОРНА
АКТИВНОСТ ПРИ ПЛЪХОВЕ**

Весела Кокова, Елисавета Апостолова, Людмил Пейчев

*Катедра по Фармакология и лекарствена токсикология, Фармацевтичен факултет,
Медицински Университет Пловдив, гр. Пловдив 4000, България, vesela_uk@abv.bg*

**COMPARISON STUDY ON THE INFLUENCE OF ETIFOXINE AND VALPROATE
SODIUM ON THE COGNITIVE FUNCTION AND LOCOMOTOR ACTIVITY IN RATS**

Vesela Kokova, Elisaveta Apostolova, Lyudmil Peychev

*Department of Pharmacology and Drug toxicology, Faculty of Pharmacy, Medical University
Plovdiv, Plovdiv, 4000, Bulgaria, vesela_uk@abv.bg*

ABSTRACT

Introduction. Etifoxine hydrochloride is a nonbenzodiazepine anxiolytic drug and in humans is effective for treating adjustment disorders with anxiety. It also has antiepileptic properties. Sodium valproate is a first-line antiepileptic drug. Anxiolytics and anticonvulsants may impair cognitive functions. **Aim.** The aim of the present study is to compare the effect of etifoxine with sodium valproate on the cognition and locomotor activity in rats. **Materials and methods.** The rats were divided in 3 groups of 8 and treated orally respectively with aqua destillata, sodium valproate in dose 100 mg/kg bw and etifoxine in dose 100 mg/kg bw. The influence on cognition was evaluated using automatic reflex conditioner (Shuttle box) and two methods for passive training: step-through and step-down. Locomotor activity was observed in automatic activity cage. **Results.** On the 1st day, the animals treated with etifoxin showed increased number of avoidances compared to controls and to the group treated with sodium valproate. Our data showed that animals treated with etifoxine as a single initial dose had significantly better results in the test for active and passive learning compared to the controls. On memory retention test this tendency was maintained. Rats treated with sodium valproate showed better results compared to the control group in active learning, respectively in short-term memory test and in passive training for long-term memory. In activity cage the initial single doses of etifoxine and sodium valproate increased horizontal and vertical activity compared to the controls. **Conclusion.** The obtained experimental data showed the tendency of etifoxine to improve the learning and memory and the locomotor activity in rats. Comparing the results for active and passive training of animals treated with etifoxine and sodium valproate, there was no significant difference. Exception was observed only in acute single administration of the medicaments, where etifoxin has considerably higher values.

Key words: *etifoxine, valproate sodium, cognitive function, locomotor activity, rats*

Въведение

Етифоксин хидрохлорид (ЕТХ) спада към групата на т.нар. малки транквилизатори. Той е небензодиазепинов анксиолитик утвърден в клиничната практика за лечение на психосоматични прояви на тревожност [1,6]. ЕТХ притежава и противогърчови свойства [2]. През последните години натриевият валпроат (VPNa) се утвърди като широкоспектърен антиконвулсант от първи избор при новодиагностицирана епилепсия. Анксиолитиците и противогърчовите средства могат да влошат когнитивните функции. Влиянието на етифоксин върху когнитивните функции на опитни животни все още не е напълно изследвано.

Цел

Цел на настоящето проучване е да се сравни влиянието на етифоксин с утвърденото в практиката антиепилептично средство натриев валпроат върху процесите на обучение и памет и локомоторна активност при плъхове.

Материали и методи

Използвани бяха 24 мъжки бели плъха порода Wistar, поставени при стандартни лабораторни условия: относителна влажност на въздуха – 45%, температура – $26,5 \pm 1^\circ\text{C}$ и достъп до храна и вода *ad libitum*. Животните бяха разделени по равно чрез случаен подбор в 3 групи ($n=8$). I-ва група (контрола) беше третирана с дестилирана вода по $1\text{ml}/100\text{g}$ т.м. р.о., II-ра група – с натриев валпроат в доза 100 mg/kg т.м. р.о., III-та група – Etifoxine hydrochloride в доза 100 mg/kg т.м. р.о.. След едноседмично претретиране с посочените вещества, за изследване на когнитивните функции на животните използвахме автоматизирани апарати на фирмата Ugo Basile (Italy). Проведе се изследване на локомоторната активност при условията на Open field test с апарат activity cage. Използвахме Shuttle box за активно обучение и регистрация на: брой условни отговори (авойданси), брой безусловни отговори (ескейпи), брой междутренировъчни преминавания и латентно време за отговор на звуков, светлинен и електростимул. Тестовите за пасивно обучение осъществихме с апарати step-through и step-down, като отчитахме латентно време за реакция на електростимул.

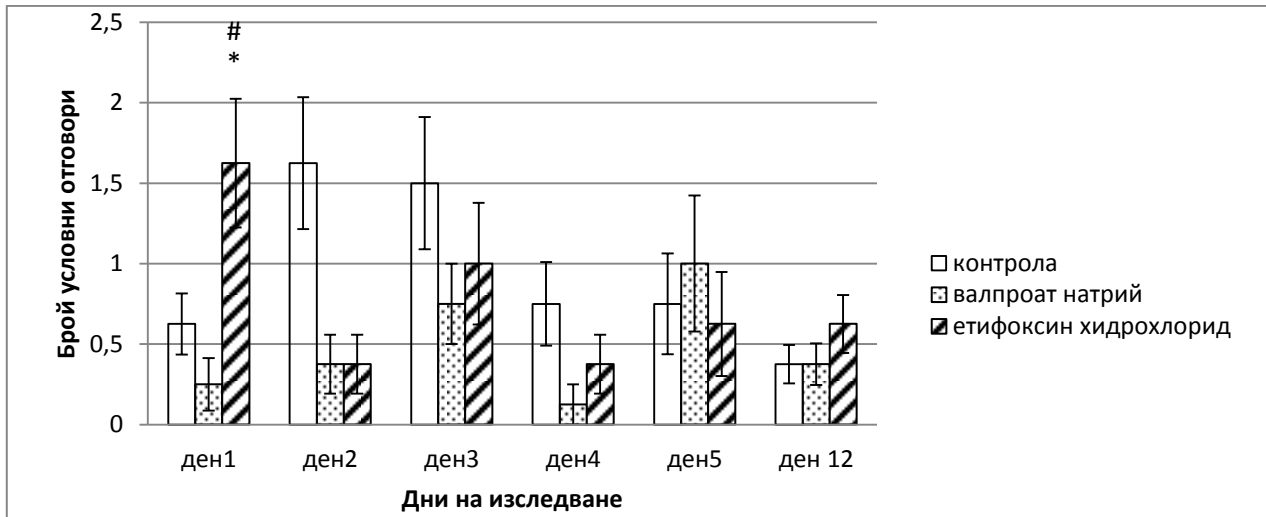
Всички експерименти са одобрени от Комисията по етика към животните към Българската агенция по безопасност на храните (БАБХ) и бяха извършени съгласно правилата на GLP.

Статистическата обработка на получените резултати осъществихме с програма SPSS 19. Резултатите са представени като средна стойност и стандартната грешка ($\pm\text{SEM}$) при уровен на значимост $p \leq 0,05$.

Резултати и обсъждане

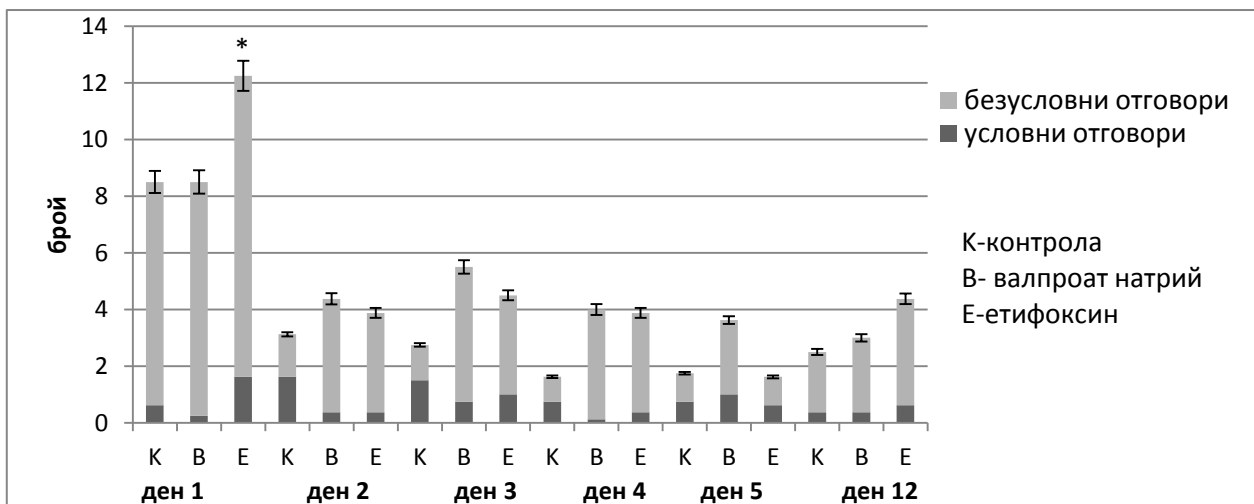
Контролната група в периода на обучение през първите 5 дни в Shuttle box показва тенденция към подобряване на активните авойданси (фиг.1). Броят на авойдансите на контролата се увеличава със статистическа значимост спрямо 1-вия ден на 2-ри ($1,63 \pm 0,41$ v/s $0,63 \pm 0,19$, $p \leq 0,05$) и на 3-ти ден ($1,5 \pm 0,41$ v/s $0,63 \pm 0,19$, $p \leq 0,05$). Групата третирана с VPNa в процеса на обучение от 1-вия до 5-тия ден показва постепенно увеличаване на броя на авойдансите. В сравнение с контролата през първите четири дни, животните третирани с VPNa показват по-малък брой авойданси, а на 5-тия по-голям брой, но без статистическа значима разлика спрямо контролата. На 1-вия ден животните третирани с ETX показват по-голям брой авойданси в сравнение с контролата ($1,63 \pm 0,4$ v/s $0,63 \pm 0,19$, $p \leq 0,05$) и по-голям брой условни отговори спрямо групата, третирана с VPNa ($1,63 \pm 0,8$ v/s $0,25 \pm 0,16$, $p \leq 0,05$). В процеса на обучение от 2-рия до 4-тия ден животните, третирани с ETX, имат по-малък брой авойданси в сравнение с контролата, а на 5-тия - нямат съществена разлика в сравнение с контролната група. По време на ретеста се наблюдава тенденция към увеличаване на условните отговори в групата третирана с ETX спрямо контролата.

Броят на ескейпите при групата, третирана с VPNa на 2-ри, 3-ти, 4-ти и 5-ти ден от обучението е по-голям в сравнение с контролата. При ретеста няма съществена разлика между контролата и групата, третирана с VPNa. През първите 4 дена животните третирани с ETX показват тенденция към по-голям брой ескейпи в сравнение с контролната група. На 5-тия ден няма съществена разлика в броя на ескейпите в сравнение с контролата. По време на ретеста броят на ескейпите при животните третирани с ETX показва тенденция към увеличаване в сравнение с контролната група.



Фиг. 1. Ефект на валпроат натрий и етиноксин хидрохлорид върху броя на условните отговори при активно обучение (shuttle box) при плъхове.* $p \leq 0,05$ спрямо контрола за съответния ден, # $p \leq 0,05$ спрямо валпроат натрий за съответния ден

В модел на сумарни резултати от пасивни и активни отговори в Shuttle box (фиг.2), включващи авойданси и ескейпи, се установява, че животните третиран с VPNa показват значимо по-голям сумарен брой отговори на 3-ти, 4-ти и 5-ти ден в сравнение с контролата. ЕТХ има статистически значим по-голям сумарен брой активни и пасивни отговори в сравнение с контролата на 1-вия ден от обучението ($12,25 \pm 0,9$ v/s $8,5 \pm 0,83$, $p \leq 0,05$). Тази тенденция се запазва през 2-ри, 3-ти и 4-ти ден. При ретеста отново ЕТХ показва по-голям сумарен брой отговори в сравнение с контролата и групата третирана с VPNa.



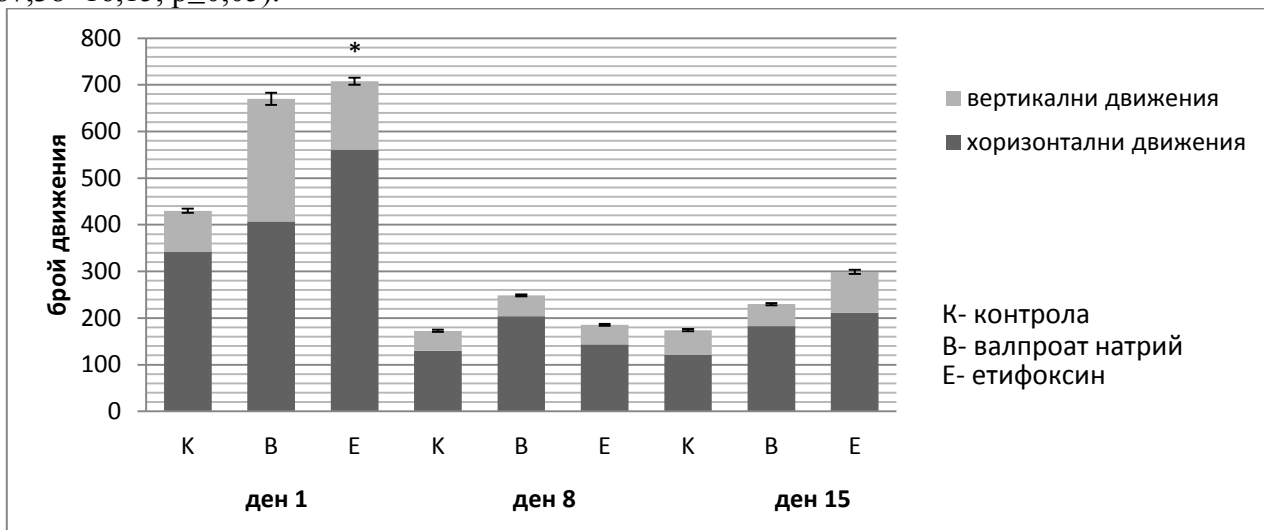
Фиг. 2. Ефект на валпроат натрий и етиноксин хидрохлорид върху сумарния брой на условни и безусловни отговори при активно обучение (shuttle box) при плъхове.* $p \leq 0,05$ спрямо контрола за съответния ден

При сравняване на показателите за латентно време и междутренировъчни преминавания в Shuttle box, тенденция към увеличаване на междутренировъчните преминавания се наблюдава по време на ретеста при групите третиран с изследваните вещества спрямо контролата.

При тестовете за пасивно обучение Step-through и Step-down се наблюдава статистическо значимо увеличаване на латентното време на контролната група на 2-рия ден при Step-through ($100,4 \pm 17,7$ v/s $32,48 \pm 10,8$, $p \leq 0,05$) и на ретеста при Step-down ($41,65 \pm 6,3$ v/s $21,08 \pm 5$, $p \leq 0,05$) спрямо първия ден. Не се установява статистическа значима разлика между

контролата и опитните групи по отношение на латентното време в съответните апарати. Изключение прави само групата третирана с VPNa на 9-тия ден по време на ретеста при Step-through, където латентното време е по-дълго в сравнение с контролата ($163,8 \pm 9,3$ v/s $92,1 \pm 24,4$, $p \leq 0,05$). При опитите с двата апарата за пасивно обучение по време на тренировъчната сесия животните третиран с ЕТХ показват тенденция за по-дълго латентно време спрямо контролата.

При изследване на локомоторната активност групите животни третиран с VPNa и ЕТХ на 1-ви, 8-ми и 15-ти ден показват по-голям брой хоризонтални движения в сравнение с контролата. Статистически значима е разликата в броя хоризонтални движения между групата, третирана с ЕТХ и контролата на 1-ви ден ($560,63 \pm 49,33$ v/s $341,88 \pm 42,6$, $p \leq 0,05$). По отношение на вертикалните движения, групата третирана с ЕТХ показва по-голям брой движения със статистическа значимост спрямо контролата отново на 1-ви ден ($147 \pm 14,03$ v/s $87,38 \pm 16,15$, $p \leq 0,05$).



Фиг. 3. Ефект на валпроат натрий и етифоксин хидрохлорид върху сумарния брой хоризонтални и вертикални движения в activity cage при плъхове. * $p \leq 0,01$ спрямо контрола за съответния ден

В модел на сумарни резултати от Open field (фиг.3) се установява, че животните третиран с VPNa и ЕТХ показват тенденция към по-голям сумарен брой хоризонтални и вертикални движения в сравнение с контролата на 1-ви, 8-ми и 15-ти ден. Разликата е статистически значима на 1-ви ден между групата третирана с ЕТХ и контролата ($707,63 \pm 17,9$ v/s $429,25 \pm 14,3$, $p \leq 0,05$).

Данните за влиянието на ЕТХ върху процесите на обучение и памет при плъхове в достъпната литература са ограничени. Клиничните проучвания сочат, че ЕТХ запазва паметта, вниманието и психомоторните функции [4,5]. Резултатите от двойно-сляпо, плацебо контролирано паралелно сравнение на седативните ефекти и предизвикването на амнезия при здрави индивиди след приложение на ЕТХ и лоразепам показва отсъствие на седация и амнезия след еднократна доза от 50 мг и 100 мг етифоксин [3]. Данните от нашето изследване показват, че животните третиран с ЕТХ в еднократна начална доза имат значимо по-добри резултати от контролата за активно и пасивно обучение. При ретестовите за дългосрочна памет тази тенденция се запазва. Опитите за активно обучение, респективно за краткосрочна памет на животни третиран с VPNa показват по-високи резултати в сравнение с контролата. Показателите за пасивно обучение за дългосрочна памет на животни третиран с VPNa сочат по-добри резултати от контролата. При изследване на познавателен рефлекс в условията на открито поле, началните еднократни дози на VPNa и ЕТХ показват по-високи резултати за хоризонтални и вертикални движения спрямо контролата.

Заклучение

Еднократната доза етифоксин подобрява показателите за условни и безусловни рефлексии, докато животните третирани с валпроат натрий показват резултати съизмерими с контролата. Сравнителното проучване за влиянието на двата медикамента върху обучение и памет не установява съществена разлика между тях. Изследването върху локомоторната активност запазва горните тенденции.

Литература

1. Girard C. et al. Axonal regeneration and neuroinflammation: roles for the translocator protein 18 kDa. *Journal of neuroendocrinology* 2011, 24:71-81.
2. Kruse HJ et al. Etifoxine: evaluation of its anticonvulsant profile in mice in comparison with sodium valproate, phenytoin and clobazam. *Arzneimittelforschung* 1985, 35(1): 133-135.
3. Micaleff J. et al. A double blind parallel group placebo controlled comparison of sedative and mnesic effects of etifoxine and lorazepam in healthy subjects [corrected]. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, June 2001, Volume 15, Issue 3:209–216.
4. Nguyen N. et al. Efficacy of etifoxine compared to lorazepam monotherapy in the treatment of patients with adjustment disorders with anxiety: a double-blind controlled study in general practice. *Hum Psychopharmacol* 2006, 21: 139-149.
5. Servant D. et al. Treatment of adjustment disorder with anxiety: efficacy and tolerance of etifoxine in a double-blind controlled study. *Encephale* 1998, 24: 569-574.
6. Schlichter R. et al. Modulation of GABAergic synaptic transmission by the non-benzodiazepine anxiolytic etifoxine. *Neuropharmacology* 2000, 39: 1523-1535.