

ВЛИЯНИЕ ОРНИТИНА АСПАРТАТА И ЭМПАГЛИФЛОЗИНА НА ПРОЯВЛЕНИЯ МНЕСТИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ

В.А. Приходько

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Минздрава России
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

В настоящем исследовании проведена оценка влияния L-орнитина L-аспартата и эмпаглифлозина на состояние гиппокамп-зависимых видов памяти при неалкогольном стеатогепатите (НАСГ) у мышей линии C57Bl/6. Установлено, что НАСГ сопровождается транзиторным снижением краткосрочной распознающей памяти на ранних этапах, а также прогрессирующим ослаблением рабочей пространственной памяти. L-орнитина L-аспартат предупреждает развитие дефицита распознающей, но не пространственной памяти, в то время как эмпаглифлозин не оказывает заметного влияния на состояние мнестических функций животных.

Ключевые слова: орнитина аспартат, эмпаглифлозин, расстройства памяти, неалкогольный стеатогепатит, неалкогольная жировая болезнь печени

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Приходько В.А. Влияние орнитина аспартата и эмпаглифлозина на проявления мнестического дефицита при экспериментальном стеатогепатите. *Биомедицина*. 2022;18(3):128–132.
<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-128-132>

Поступила 05.04.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

EFFECTS OF ORNITHINE ASPARTATE AND EMPAGLIFLOZIN ON MEMORY DEFICIT SYMPTOMS IN EXPERIMENTAL STEATOHEPATITIS

Veronika A. Prikhodko

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

In this study, L-ornithine L-aspartate and empagliflozin were evaluated in terms of their potential effects on the hippocampus-dependent memory status in non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in C57Bl/6 mice. NASH was found to be associated with an early transient decrease in the short-term recognition memory as well as a progressive reduction in the short-term spatial memory. L-ornithine L aspartate effectively prevented the impairment of recognition, rather than spatial, memory. At the same time, empagliflozin failed to improve the memory status of the animals.

Keywords: ornithine aspartate, empagliflozin, memory deficit, non-alcoholic steatohepatitis, non-alcoholic fatty liver disease

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Prikhodko V.A. Effects of Ornithine Aspartate and Empagliflozin on Memory Deficit Symptoms in Experimental Steatohepatitis. *Journal Biomed.* 2022;18(2):128–132. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-128-132>

Submitted 05.04.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Нарушения зрительно-пространственной, эпизодической вербальной и других видов гиппокамп-зависимой памяти являются одним из наиболее частых проявлений когнитивного дефицита, ассоциированного с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП). Несмотря на наличие широкого спектра лекарственных средств, применение которых может быть показано у больных НАЖБП, в настоящее время их эффективность в отношении центральных неврологических осложнений этого заболевания, включая когнитивно-мнестические нарушения, остаётся недостаточно изученной [6].

Целью исследования стала оценка влияния двух лекарственных средств с гепатопротекторной активностью — L-орнитина L-аспартата (LOLA) и эмпаглифлозина — на проявления мнестического дефицита при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите (НАСГ) у мышей линии C57Bl/6.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 100 мышак-самцах линии C57Bl/6, рандомизированных на 4 группы: 1) «Интакт» (n=10); 2) «Контроль» (n=30): НАСГ; 3) «LOLA» (n=30): НАСГ + LOLA (1,5 г/кг/сут.; Гепат-Мерц®, «Merz Pharma», Германия); 4) «EMPA» (n=30): экспериментальный НАСГ + EMPA (10 мг/кг/сут.; Джардинс®, «Boehringer Ingelheim», Германия). LOLA и EMPA вводили 1 раз в сутки внутривенно в виде свежеприготовленных вод-

ных р-ров; группы «Интакт» и «Контроль» получали физ. р-р в эквивалентных количествах. НАСГ моделировали в течение 3 мес. с использованием комбинированной алиментарно-токсической модели [9].

Состояние мнестических функций животных оценивали через 1, 2 и 3 мес. от начала эксперимента. Для оценки краткосрочной пространственной памяти определяли частоту (%) актов спонтанного чередования в тесте «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» (ТЛ-СЧ) (НПК «Открытая Наука», Россия) [3]. Состояние краткосрочной распознающей памяти оценивали с помощью теста «Распознавание нового объекта» (РНО) (НПК «Открытая Наука», Россия), определяя долю времени изучения нового объекта (НО) (%) и индекс дискриминации [7].

Результаты и их обсуждение

В тесте ТЛ-СЧ у интактных животных в течение всего экспериментального периода частота спонтанного чередования сохранялась на уровне 70–73%, соответствующем референтному [3]. В контрольной группе наблюдалось линейно прогрессирующее уменьшение частоты чередования, и к окончанию эксперимента это отличие стало статистически значимым (73% против 33%; $p < 0,01$). LOLA и EMPA не оказывали существенного влияния на данный показатель на протяжении всего экспериментального периода (рис. 1).

В тесте РНО интактные животные во всех контрольных точках демонстрировали положительную дискриминацию НО, что согласуется с литературными данными [7].

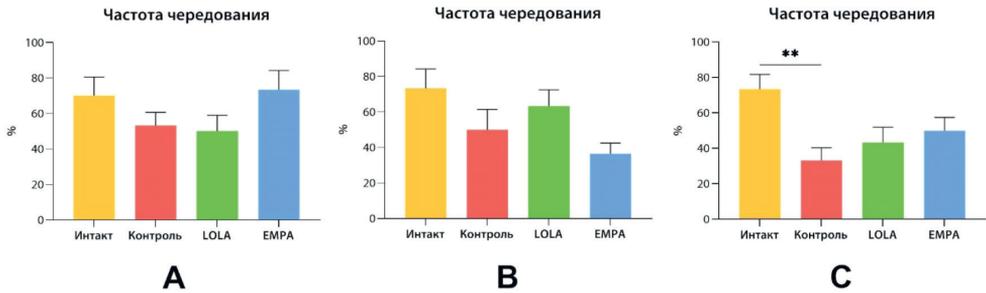


Рис. 1. Результаты оценки состояния краткосрочной пространственной памяти животных в тесте «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» через 1 (А), 2 (В) и 3 (С) месяца от начала эксперимента. LOLA — L-орнитина L-аспаратат, EMPA — эмпаглифлозин; ** — $p < 0,01$.

Fig. 1. Short-term spatial memory status as assessed by spontaneous alternation in the T-maze at 1 (A), 2 (B), and 3 (C) months from the start of the experiment. LOLA — L-ornithine L-aspartate, EMPA — empagliflozin; ** — $p < 0.01$.

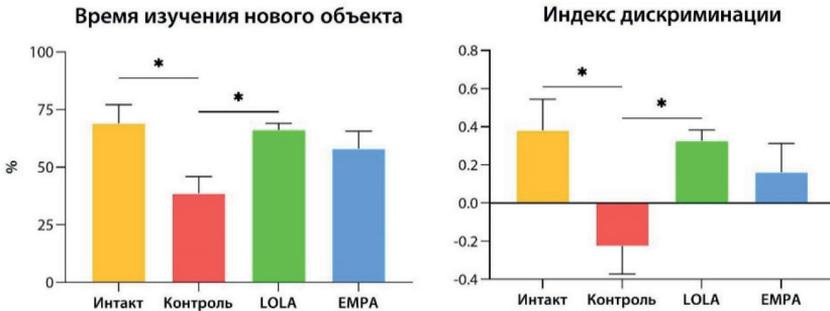


Рис. 2. Результаты оценки состояния краткосрочной распознающей памяти животных в тесте «Распознавание нового объекта» через 2 мес. от начала эксперимента. LOLA — L-орнитина L-аспаратат, EMPA — эмпаглифлозин; * — $p < 0,05$.

Fig. 2. Short-term recognition memory status as assessed by novel object recognition at 2 months from the start of the experiment. LOLA — L-ornithine L-aspartate, EMPA — empagliflozin; * — $p < 0.05$.

Через 2 мес. от начала эксперимента у мышей с НАСГ наблюдалось значительное уменьшение времени изучения НО и индекса дискриминации ($p < 0,05$ в обоих случаях), однако к окончанию 3-го мес. эти различия нивелировались. В группе LOLA через 2 мес. эксперимента значения обоих показателей значимо превышали таковые в контрольной группе ($p < 0,05$), но практически не отличались от них к окончанию периода исследования. EMPA не оказывал заметного влияния на оцениваемые показатели ни в одной из контрольных точек (рис. 2).

Избирательное нарушение формирования и ретенции аллоцентрических пространственных представлений при сохранении референтной зрительной памяти характерно для животных с повреждённым гиппокампом. Установлено, что ослабление краткосрочной пространственной памяти при НАСГ и гипераммониемии у грызунов обусловлено снижением метаболической активности нейронов гиппокампа, таламуса, энторинальной коры, миндалевидного и мамиллярных тел, а также снижением уровней норадреналина в стриатуме и дофамина в префронтальной коре и мозжеч-

ке [5]. Развитие дефицита зрительно-пространственной памяти у пациентов с различными стадиями НАЖБП было подтверждено в двух срезовых популяционных исследованиях и одном исследовании типа «случай-контроль» [4].

Транзиторный характер нарушений краткосрочной распознающей памяти, вероятно, обусловлен адаптацией обменных процессов к внешнему воздействию. Установлено, что распознающая память, как и пространственная, относится к гиппокамп-зависимым функциям, однако является значительно менее «ресурсоёмкой». Так, у крыс ослабление пространственной памяти развивалось при билатеральном повреждении от 30% объёма гиппокампа, в то время как способность к распознаванию объектов сохранялась при поражении до 75% его объёма [1].

Предположительно, LOLA может способствовать компенсации дефицита распознающей памяти путём реактивации орнитинового цикла в гепатоцитах и уменьшения центральной нейротоксичности

аммиака, а также участия в реакциях образования глутатиона, L-аргинина, незаменимых аминокислот и полиаминов [2, 8]. С учётом отсутствия значимого влияния LOLA на состояние пространственной памяти можно предположить, что восполнение системного резерва орнитина способно лишь частично компенсировать поражение гиппокампа, возникающее на фоне НАСГ.

Выводы

Экспериментальный НАСГ у мышей линии C57Bl/6 сопровождается транзиторным снижением краткосрочной распознающей памяти на ранних этапах, а также прогрессирующим ослаблением рабочей пространственной памяти, предположительно, связанным с поражением гиппокампа и ассоциированных структур. LOLA предупреждает развитие дефицита распознающей памяти, но не влияет на состояние пространственной памяти животных. ЕМРА не оказывает заметного влияния на проявления мнестического дефицита при экспериментальном НАСГ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Broadbent N.J., Squire L.R., Clark R.E. Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004;101(40):14515–14520. DOI: 10.1073/pnas.0406344101.
2. Butterworth R.F. L-Ornithine L-Aspartate (LOLA) for the treatment of hepatic encephalopathy in cirrhosis: Novel insights and translation to the clinic. *Drugs*. 2019;79(Suppl 1):1–3. DOI: 10.1007/s40265-018-1021-4.
3. Deacon R.M., Rawlins J.N. T-maze alternation in the rodent. *Nat. Protoc.* 2006;1(1):7–12. DOI: 10.1038/nprot.2006.2.
4. George E.S., Sood S., Daly R.M., Tan S.Y. Is there an association between non-alcoholic fatty liver disease and cognitive function? A systematic review. *BMC Geriatr.* 2022;22(1):47. DOI: 10.1186/s12877-021-02721-w.
5. Higarza S.G., Arboleya S., Gueimonde M., Gómez-Lázaro E., Arias J.L., Arias N. Neurobehavioral dysfunction in non-alcoholic steatohepatitis is associated with hyperammonemia, gut dysbiosis, and metabolic and functional brain regional deficits. *PLoS One.* 2019;14(9):e0223019. DOI: 10.1371/journal.pone.0223019.
6. Kjærgaard K., Mikkelsen A.C.D., Wernberg C.W., Grønkjær L.L., Eriksen P.L., Damholdt M.F., Mookerjee R.P., Vilstrup H., Lauridsen M.M., Thomsen K.L. Cognitive dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease—current knowledge, mechanisms and perspectives. *J. Clin. Med.* 2021;10(4):673. DOI: 10.3390/jcm10040673.
7. Leger M., Quiedeville A., Bouet V., Haelewyn B., Boulouard M., Schumann-Bard P., Freret T. Object recognition test in mice. *Nat. Protoc.* 2013;8(12):2531–2537. DOI: 10.1038/nprot.2013.155.
8. Prikhodko V.A., Sysyov Yu.I., Poveryaeva M.A., Bunyat A.V., Ivkin D.Y., Sukhanov D.S., Shustov E.B., Okovityi S.V., Karev V.E. Effects of empagliflozin and L-ornithine L-aspartate on behavior, cognitive functions, and physical performance in mice with experimentally induced steatohepatitis. *Bull. Russ. State Med. Univ.* 2020;(3):49–57. DOI: 10.24075/brsmu.2020.034.
9. Tsuchida T., Lee Y.A., Fujiwara N., Ybanez M., Allen B., Martins S., Fiel M.I., Goossens N., Chou H.I., Hoshida Y., Friedman S.L. A simple diet and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver. *J. Hepatol.* 2018;69(2):385–395. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.03.011.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Приходько Вероника Александровна, ФГБОУ
ВО «Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет» Мин-
здрава России;
e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

Veronika A. Prihodko, St. Petersburg State
Chemical and Pharmaceutical University of the Mi-
nistry of Health Care of Russia;
e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com