

Є. В. Коболєв

ВПЛИВ ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ДІАЗЕПАМУ ТА ПЕНТОКСИФІЛІНУ НА ПРОЯВИ ФАРМАКОЛОГІЧНО РЕЗИСТЕНТНОГО СУДОМНОГО СИНДРОМУ

Одеський державний медичний університет

Встановлено, що при формуванні епілептичного синдрому важливим механізмом є посилення активності ендогенної системи прозапальних цитокинів [1; 2]. Так, рівень фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП-альфа) й інтерлейкіну-1-бета (ІЛ-1-бета) підвищується в тканині мозку щурів при моделюванні кіндлінгового епілептичного синдрому [3]. Вказують на патогенетичну роль цієї системи за умов формування хронічної епілептизації мозку, її значення в механізмах порушень ГАМК-ергічного гальмівного контролю нейрональних структур і виникнення патологічно посиленого їх збудження [4].

Однак прояви кіндлінг-обумовленої епілептичної активності не досліджували за умов виникнення у тварин стану фармакологічної резистентності (нечутливості) до дії антиепілептичних фармакологічних засобів і застосування фармакотерапії, спрямованої на зменшення вивільнення прозапальних цитокинів і відновлення ГАМК-ергічного гальмування.

Тому **метою** цього дослідження було вивчення особливостей судом і поведінки щурів у тесті «відкритого поля» у віддаленому періоді коразолового кіндлінгу за умов застосування пентоксифіліну (ПТФ), здатного знижувати активність системи прозапальних цитокинів [6], а також діазепаму.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено в гострому експерименті на щу-

рах-самцях лінії Вістар масою 180–270 г, які знаходилися в звичайних умовах утримання та годування, з вільним доступом до води та їжі.

Кіндлінг відтворювали шляхом однократних щодобових введеннь субконвульсивної дози коразолу (30,0 мг/кг), внутрішньоочередовинно (в/о) протягом 3 тиж. [3]. У подальших спостереженнях використовували щурів, у яких останні три ін'єкції спричинювали генералізовані клоніко-тонічні судомні напади. Цим тваринам (50 щурів) через 3 тиж. з моменту відтворення кіндлінгу в/о вводили тестуючу дозу коразолу (30,0 мг/кг). Тяжкість судом оцінювали за п'ятибальною шкалою [3].

Діазепам («Гедеон Ріхтер», Угорщина) вводили в/о із розрахунку 0,1 та 0,5 мг/кг. Пентоксифілін («Sigma», США) вводили в/о з розрахунку 50,0 та 100,0 мг/кг, а коразол (30,0 мг/кг, в/о) — через півгодини після застосування препаратів.

Визначали кількість тварин із генералізованими судомними реакціями. Тваринам контрольної групи, замість препаратів, застосовували аналогічний об'єм 0,9%-го розчину NaCl.

Дослідження поведінки щурів у тесті відкритого поля проводили через 24 год від моменту тестуючого введення коразолу.

Оцінку результатів досліджень здійснювали за програмою «Primer Biostatics» (США) на комп'ютері IBM PC IT із використанням загальноприйнятих у медико-біологічних дослідженнях статистичних критеріїв

— ANOVA+ Newmann — Keuls, а також точного критерію Фішера для чотирипольної таблиці.

Результати дослідження та їх обговорення

У віддаленому періоді коразолового кіндлінгу тестуюче введення коразолу (30,0 мг/кг, в/о) супроводжувалося виникненням у всіх експериментальних тварин клоніко-тонічних судом, які мали спотворений характер і виникали в окремих тварин послідовно від 2 до 5 разів протягом півгодини спостереження.

Застосування діазепаму в щурів у віддаленому періоді кіндлінгу при відносно високій дозі (0,5 мг/кг) запобігало генералізованим клоніко-тонічним нападам у 21,5 % тварин ($P > 0,025$), тимчасом як за умов раннього періоду кіндлінгу (24 год) від моменту останнього кіндлінгового подразнення, яке спричинювало генералізовані судоми, аналогічна доза препарату запобігала виникненню генералізованих судом у 8 (72,7 %) з 11 тварин ($P < 0,025$).

Під впливом ПТФ (50,0 мг/кг, в/о) у 35,7 % тварин кіндлінгове введення коразолу не спричинювало розвитку генералізованих судом ($P > 0,025$), тимчасом як застосування ПТФ дозою 100,0 мг/кг в/о супроводжувалося превентивним ефектом у 20,0 % тварин ($P > 0,025$) (табл. 1).

За умов комбінованого застосування діазепаму (0,1 мг/кг) і ПТФ (50,0 мг/кг, в/о) клоніко-тонічні судоми були відсутні у



53,3 % експериментальних тварин ($P < 0,025$), а при застосуванні діазепаму дозою 0,5 мг/кг — у 60,0 % ($P < 0,025$), що також було вірогідно вище, ніж у групах, в яких застосовували діазепам і ПТФ самостійно ($P < 0,025$).

При дослідженні щурів у «відкритому полі» не було зареєстровано відмінностей між кіндлінговими й інтактними тваринами (табл. 2). Однак після тестуючого введення коразолу (30,0 мг/кг, в/о) у кіндлінгових щурів спостерігалось різке при-

гнічення рухової активності (див. табл. 2).

Під впливом застосування лише діазепаму (0,5 мг/кг) загальна кількість пересічених квадратів зменшувалася на 55,5 % порівняно з вихідними показниками у кіндлінгових щурів, у тому числі зовнішніх квадратів — на 57,6 % ($P < 0,05$). Кількість пересічених квадратів за умови одночасного застосування ПТФ і діазепаму знижувалася на 35,8 %, у тому числі зовнішніх — на 34,8 % ($P < 0,05$) (див. табл. 2).

За умов застосування лише ПТФ (50,0 мг/кг, в/о) через 24 год від моменту застосування коразолу в кіндлінгових щурів відмічалось зниження рухової активності, що виявлялося зменшенням кількості пересічених квадратів на 40,0 % порівняно з вихідними даними у кіндлінгових тварин ($P < 0,05$) (див. табл. 2). При цьому йшлося про зменшення кількості пересічених зовнішніх квадратів на 46,9 % ($P < 0,05$).

Загальна кількість стійок при застосуванні діазепаму зменшувалася в 4,7 разу, а при застосуванні ПТФ — в 3,4 разу, тимчасом як при комбінованому введенні препаратів цей показник порівняно з таким у вихідному фоні зменшувався на 41,8 % ($P < 0,05$). Причому він був вірогідно більшим порівняно з показниками у групі кіндлінгових тварин, яким не застосовували препарати (в 4,3 разу), а також у групі кіндлінгових щурів із введенням лише діазепаму (в 2,7 разу) ($P < 0,05$). Кількість стійок з опорою за умов одночасного використання ПТФ і діазепаму не відрізнялася від такої у вихідному фоні та перевищувала показник у кіндлінгових щурів через 24 год від моменту введен-

Таблиця 1

Вплив роздільного та поєднаного використання діазепаму та пентоксифіліну у віддаленому періоді коразолового кіндлінгу в щурів

Показники	Співвідношення кількості щурів із судомами виразністю 4–5 балів до загальної кількості тварин у групі	P порівняно з контролем (критерій Фішера)
Контроль	15/15	—
Діазепам (0,1 мг/кг)	13/14	0,025
Діазепам (0,5 мг/кг)	11/14	>0,025
ПТФ (50,0 мг/кг)	9/14	>0,025
ПТФ (100,0 мг/кг)	12/15	>0,025
ПТФ (50,0 мг/кг) + діазепам (0,1 мг/кг)	7/15	<0,025
ПТФ (100,0 мг/кг) + діазепам (0,5 мг/кг)	4/15	<0,025

Таблиця 2

Показники рухової активності щурів у тесті «відкрите поле» через 2 год від моменту введення коразолу, M±m

Показники	Інтактні щури, n=10	Кіндлінгові щури, n=8	Інтактні + коразол, n=9	Кіндлінг + коразол, n=8	Діазепам (0,5 мг/кг), n=9	ПТФ (50,0 мг/кг), n=7	Діазепам (0,5 мг/кг) + ПТФ (50,0 мг/кг), n=7
Загальна кількість пересічених квадратів	23,1±1,6	25,4±1,5	19,8±1,3	11,9±2,0*	11,3±1,2*	15,0±2,4*	16,3±1,6*
Кількість зовнішніх квадратів	20,2±1,9	22,4±1,7	18,5±1,5	9,7±2,0*	9,5±1,4*	11,9±2,8*	14,6±1,7*
Кількість внутрішніх квадратів	2,9±0,7	3,0±0,8	1,3±0,5	2,2±1,8	1,8±0,4	3,1±1,3	1,7±0,7
Загальна кількість стійок	8,5±0,7	10,3±1,0	7,2±0,8	1,4±0,4*	2,2±0,6*	3,0±0,8*	6,0±0,7**
Стійки з опорою	6,2±0,4	7,7±0,9	5,4±0,8	1,4±0,4*	1,6±0,4*	2,6±0,8*	5,0±0,9#
Стійки без опори	2,3±0,4	2,6±0,5	1,8±0,7	0*	0,6±0,2*	0,4±0,2*	0,7±0,3**
Заглядання в дірки підлоги	1,2±0,3	1,3±0,4	1,0±0,4	0,1±0,1*	0,5±0,2	0,4±0,3	0,6±0,3
Грумінг	0,6±0,2	0,4±0,2	0,2±0,2	0,6±0,2	0,8±0,3	1,3±0,6	1,0±0,3
Кількість болюсів	0,7±0,3	0,4±0,3	0,5±0,2	0,9±0,5	0,5±0,2	0,4±0,3	1,0±0,5
Кількість уринацій	0,6±0,2	0,5±0,3	0,4±0,2	0,7±0,3	0,7±0,2	0,5±0,2	0,4±0,2

Примітка. * — $P < 0,05$ порівняно з показником у групі № 5; # — $P < 0,05$ порівняно з показником у групі № 6 (ANOVA — Newman — Keuls тест).



ня тестуючої дози коразолу в 3,6 разу ($P < 0,05$). Водночас кількість стійок без опори залишалася меншою порівняно з такою у вихідному фоні (в 3,7 разу) ($P < 0,05$) (див. табл. 2).

Отримані результати свідчать, що у віддаленому періоді коразолового кіндлінгу, який є моделлю резистивної форми епілепсії [5; 8], у щурів спостерігається певне зниження протіепілептичної ефективності діазепаму, який навіть при його застосуванні дозою 0,5 мг/кг в/о не справляв протективного ефекту щодо генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів, тимчасом як для гострих форм судом така доза препарату є ефективною [3; 5]. Слід зазначити, що зниження ефективності діазепаму у віддаленому періоді кіндлінгу може певною мірою відображувати відомі ефекти толерантності до дії цього препарату [7] і слугувати експериментальною моделлю толерантності до впливу бензодіазепінів.

Разом із цим, застосування діазепаму в самостійно неефективних дозах водночас із ПТФ, який має здатність знижувати активність ендогенної системи прозапальних цитокінів, супроводжується виникненням протективного антисудомного ефекту. Цей факт може свідчити про значення прозапальних цитокінів — фактора некрозу пухлин-альфа й інтерлейкіну-1-бета у механізмах розвитку фармакологічної резистентності кіндлінгової епілептичної активності, а також на можливий функціональний зв'язок системи з ГАМК-ергічними механізмами регуляції нейрональної збудливості [4; 8].

Отримані результати свідчать, що тривале пригнічення дослідної рухової активності кіндлінгових щурів, провоковане застосуванням тестуючої дози коразолу, у віддаленому періоді кіндлінгу зменшується за своєю виразністю за умов одночасного застосування діазепаму та ПТФ. Цей ефект є ви-

разнішим щодо показника кількості вертикальних стійок тварин, зокрема здійснюваних з опорою на стінки «відкритого поля». Важливим результатом є те, що застосування діазепаму було менш ефективним щодо досліджуваних у «відкритому полі» показників рухової активності тварин, тимчасом як за умови одного застосування ПТФ вони мали позитивну тенденцію до відновлення. Можна вважати, що рухові порушення, провоковані у щурів із коразоловим кіндлінгом, у віддаленому періоді його розвитку є більш залежними від стану збудження ендогенної системи прозапальних цитокінів, ніж від стану ГАМК-ергічного гальмування.

Отже, існує можливість підвищення ефективності дії антиепілептичних препаратів (бензодіазепінів) за умов їх застосування з препаратами, дія яких полягає в зниженні функціональної активності системи прозапальних цитокінів щодо фармакологічно резистентних судомних проявів.

Висновки

1. Застосування діазепаму в комбінації з пентоксифіліном на моделі резистивної до дії антиепілептичних препаратів коразол-індукованої кіндлінгової епілептичної активності супроводжується виникненням протективного антиепілептичного ефекту щодо генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів.

2. Постсудомна рухова депресія, спричинена у віддаленому періоді кіндлінгу тестуючим застосуванням коразолу, усувається комбінованим використанням діазепаму та пентоксифіліну в самостійно неефективних дозах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Годлевський Л. С. Нейроімунологічні механізми контролю збудливості головного мозку / Л. С. Годлевський, О. М. Ненова // Досягнення біології та медицини. — 2006. — № 1. — С. 75-92.

2. Евсеев В. А. Нейроиммунопатологические аспекты эпилепсии / В. А. Евсеев, Л. А. Ветриле, М. Н. Карпова // Вестник РАМН. — 2004. — Т. 8. — С. 43-46.

3. Шандра А. А. Киндлинг как модель эпилептической активности / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов. — Одесса : Астропринт, 1999. — 276 с.

4. Facilitation of spike-wave discharge activity by lipopolysaccharides in wistar albino Glaxo/Rijswijk rats / Z. Kovacs, K. A. Kekesi, N. Szilagyi [et al.] // Neuroscience. — 2006. — Vol. 140, N 2. — P. 731-742.

5. Loscher W. Animal models of drug resistant epilepsy / W. Loscher // Mechanisms of drug resistance in epilepsy: lessons from oncology ; ed. V. Ling. — Chichester : Wiley, 2002. — P. 149-158.

6. Pentoxifylline and propentophylline are inhibitors of TNF-alpha release in monocytes activated by advanced glycation endproducts / I. Meiners, S. Hauschildt, K. Nieber, G. Munch // J. Neural. Transm. — 2004. — Vol. 111, N 3. — P. 441-447.

7. Pratt J. A. Benzodiazepine dependence: from neural circuits to gene expression / J. A. Pratt, R. R. Brett // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1998. — Vol. 59, N 4. — P. 925-934.

8. Vezzani A. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence / A. Vezzani, T. Granata // Epilepsia. — 2005. — Vol. 46. — P. 1-20.

