

ЕФЕКТИ ВВЕДЕННЯ ІЗОПІКАМІЛОНУ ТА ПІКАМІЛОНУ В УМОВАХ ФОРМУВАННЯ ПІКРОТОКСИНІНДУКОВАНОЇ СУДОМНОЇ АКТИВНОСТІ У ЩУРІВ

Надійшла 05.05.14

Розвиток судом у щурів індукували за допомогою повторних уведень пікротоксину – ПТ (внутрішньоочеревинно кожні 30 хв у дозі 0.9 мг/кг при першій ін'єкції та 0.7 мг/кг при наступних введеннях). Ізопікамілон (ІПМ) та пікамілон (ПМ) у дозах 20 або 50 мг/кг ін'єкували тваринам внутрішньоочеревинно за 30 хв до введення ПТ. Епілептиформну активність (ЕФА), що виникала в структурах мозку в умовах попереднього системного введення ПМ та ІПМ, можна було поділити на два типи – активність з розвитком тільки пік-хвильових розрядів – ПХР (61.3 %) та регулярну кортикальну пікову активність з генерацією окремих нетривалих ПХР (38.7 %). У щурів з ЕФА першого типу частота та тривалість судомних ПХР істотно знижувалися при введенні ПМ та ІПМ у дозах 50 мг/кг. У щурів з ЕФА другого типу інтенсивність ПХР зменшувалась і в разі введення препаратів у дозах 20 мг/кг. Застосування ІПМ з метою забезпечити протекторну протисудомну дію виявилось ефективнішим.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: епілептиформна активність (ЕФА), пік-хвильові розряди (ПХР), регулярні кортикальні пікові розряди, ізопікамілон (ІПМ), пікамілон (ПМ).

ВСТУП

Показано, що для ГАМК-ергічних препаратів характерні явні нейропротекторні та лікувальні властивості [1–4]. Одним із таких препаратів є пікамілон (ПМ) – натрієва сіль N-нікотиніоїлу ГАМК [5]. ПМ широко застосовується як засіб, що забезпечує позитивні цереброваскулярні, ноотропні та транквілізуючі ефекти [6, 7]. Ретельні дослідження механізмів реалізації цих ефектів ПМ, його аналогів та похідних, здатних пригнічувати та припиняти розповсюдження епілептичної активності в результаті модуляції стану ГАМК-ергічної системи, є високоактуальними.

Ми досліджували вплив ПМ та ізопікамілону (ІПМ) на формування судомної активності при повторних введеннях щурам пікротоксину (ПТ) у субконвульсивних дозах протягом декількох годин.

МЕТОДИКА

Експерименти були виконані на 40 самцях білих

нелінійних щурів (маса 180–250 г) в умовах хронічного експерименту. Підготовчі операції здійснювали під комплексним наркозом (тіопентал натрію 70 мг/кг + каліпсол 7 мг/кг, внутрішньоочеревинно). Стереотаксичну імплантацію монополярних ніхромових електродів у лаковій ізоляції (діаметр кінчика 0.10–0.15 мм) у лобну кору великих півкуль, вентральний гіпокамп та медіодорсальний таламус проводили за координатами стереотаксичного атласу [8]. Реєстрацію електричної активності даних структур в умовах введення конвульсанта (ПТ) і згаданих вище ГАМК-міметиків та дослідження поведінкових реакцій здійснювали не раніше ніж через сім днів після підготовчих операцій. Реєстрацію масової електричної активності вказаних церебральних структур проводили в умовах вільної поведінки щурів протягом 60 хв перед введенням конвульсанта та через 5–6 год після цього. Використовували диференційний підсилювач DL304 («НейроБио-Лаб», РФ), підключений до АЦП (L-154, «Л-КАРД», РФ). Запис і аналіз електричної активності виконували із застосуванням програми багатоканального осцилографа «PowerGraph» («National Instruments», США).

Розвиток епілептиформної активності (ЕФА) індуку-

¹ Одеський національний медичний університет МОЗ України (Україна).

² Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова (Україна).

Ел. пошта: ksenia_den@mail.ru (О. В. Денисенко)

вали введеннями ПТ («Sigma», США), внутрішньоочеревинно кожні 30 хв у дозах 0.9 мг/кг при першій ін'єкції та 0.7 мг/кг при наступних. Сумарна доза ПТ, яку одержували шури в експерименті, не перевищувала 6.5 мг/кг. Частині тварин за 30 хв до введення ПТ ін'єкували також внутрішньоочеревинно ПМ або ПМ («Консорціум – ПИК», РФ) у дозах 20 ($n = 16$) та 50 мг/кг ($n = 15$). Тваринам контрольної групи ($n = 9$) за 30 хв до ін'єкції ПТ вводили 0.9 %-вий розчин NaCl в аналогічному об'ємі.

Техніка аналізу частотно-амплітудних характеристик пік-хвильових розрядів (ПХР) та їх комплексів, окремих пікових потенціалів тощо була описана раніше [3]. Інтенсивність судомної активності експериментальних шурів оцінювали візуально за шестибальною шкалою [9].

Отримані числові результати обробляли статистично з використанням стандартних підходів. Міжгрупові відмінності вважалися вірогідними при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для формування ЕФА шурам кожні 30 хв вводили ПТ у дозі, яка спочатку у більшості тварин не

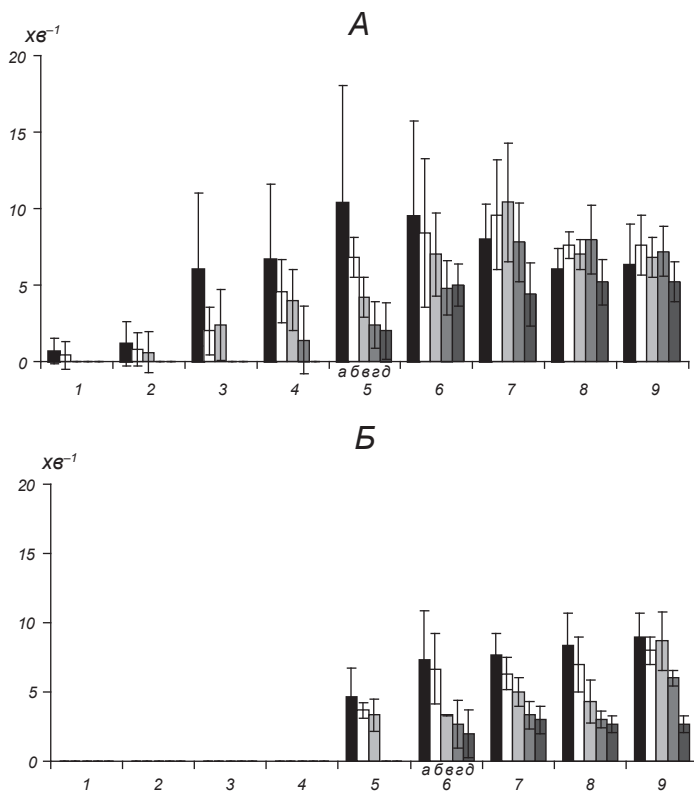
викликала змін поведінки. При повторних введеннях ПТ у субконвульсивних дозах виявилось, що за особливостями формування ЕФА згідно з електрографічними показниками таку активність можна поділити на два типи. У 66.7 % тварин розвивалися лише ПХР, а в 33.3 % виникала регулярна кортикальна пікова активність з генерацією окремих нетривалих ПХР. Інтенсивність судом у шурів без генерації регулярних піків та з такою генерацією була різною і в середньому складала після дев'ятого введення конвульсанту 3.0 ± 0.63 та 2.0 ± 0.10 бала відповідно.

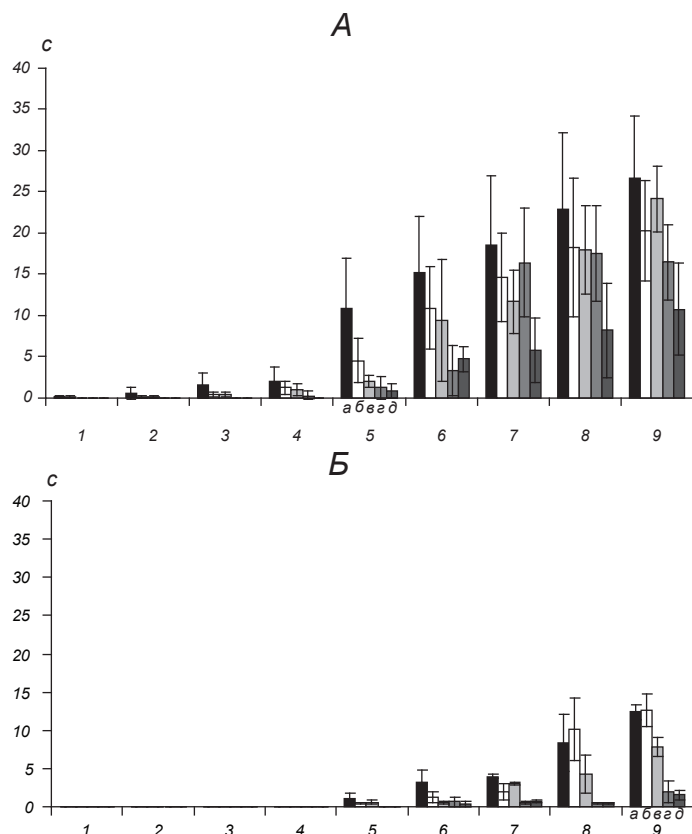
Індукція ЕФА в умовах попереднього системного введення похідних нікотинової кислоти та ГАМК також відбувалась із формуванням активності двох типів. У 19 із 31 шура (61.3 %) спостерігали розвиток ПХР, а у 12 із 31 (38.7 %) – додаткову генерацію регулярних піків у лобній корі. Коли вводили ПМ та ПМ у дозах 50 мг/кг, перші ПХР з'являлися лише після четвертої ін'єкції ПТ у разі введення ПМ та після п'ятої ін'єкції – в разі введення ПМ. В умовах попереднього введення аналогів ГАМК у тварин без генерації регулярних піків максимум зростання частоти ПХР реєструвався після сьомої ін'єкції конвульсанту при введенні ПМ та ПМ у дозах 20 мг/кг і лише після восьмої ін'єкції – при збільшенні доз даних агентів (рис. 1).

Динаміка тривалості розрядів із судомними проявами в дослідних групах була однотипною, але ступінь зростання цього показника залежав від уведеного препарату та його дози. У групах із ін'єкціями похідних ГАМК у дозах 50 мг/кг після п'ятого введення ПТ тривалість ПХР була в 10 разів меншою, ніж у контролі, а після шостого введення ПКТ – у три-чотири рази. На останніх етапах формування ЕФА без генерації регулярних піків при введенні ПМ у дозі 50 мг/кг ступінь зростання тривалості судомних розрядів був меншим у два-три рази, ніж у контрольних шурів та шурів, котрим вводили 20 мг/кг ПМ (рис. 2, А). Середня інтенсивність судом у групах з попереднім введенням ПМ та ПМ складала 2.0 ± 0.71 та 2.25 ± 0.50 бала відповідно.

Рис. 1. Вплив попереднього введення ізопікамилону (ПМ) та пікамилону (ПМ) у дозах 20 та 50 мг/кг на частоту пік-хвильових розрядів (ПХР) при прискореному формуванні пікротоксин (ПТ-) -індукованих судом у шурів.

А – за відсутності генерації регулярних піків у лобній корі, Б – при генерації таких піків. По горизонталі – порядкові номери ін'єкцій ПТ. Показані середні \pm середньоквадратичні відхилення. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ – вірогідні відмінності досліджуваного показника у шурів експериментальних груп порівняно з таким у контрольних тварин. а – при введенні ПТ, б – 20 мг/кг ПМ + ПТ, в – 50 мг/кг ПМ + ПТ, г – 20 мг/кг ПМ + ПТ і д – 50 мг/кг ПМ + ПТ.





Р и с. 2. Вплив попереднього введення ізопікамилону (ІПМ) та пікамилону (ПМ) у дозах 20 та 50 мг/кг на тривалість пікхвильових розрядів (ПХР) при прискореному формуванні пікротоксиніндукованих судом у щурів.

А – за відсутності генерації регулярних піків у лобній корі, *Б* – при генерації таких піків. По вертикалі – сумарна тривалість ПХР (с) протягом однохвилинного спостереження. Решта позначень ті ж самі, що й на рис. 1.

У тварин із розвитком регулярної кортикальної пікової активності на тлі введення похідних ГАМК також спостерігали дозозалежний характер динаміки досліджуваних показників (рис. 1, *Б*; 2, *Б*). У тварин, котрим ПМ та ІПМ вводили в дозах 20 мг/кг, періоди іммобілізації були зареєстровані лише після п'ятої ін'єкції ПТ. У тварин з уведенням ПМ у дозі 20 мг/кг сьома–дев'ята ін'єкції ПТ супроводжувалися розвитком розрядів, які за своїми параметрами були близькими до таких, зареєстрованих при ізолюваному введенні ПТ. Ін'єкції ІПМ у цій дозі зумовлювали менші значення зростання частоти та тривалості ПХР. Відповідні різниці склали 2.2 та 5.7 разу після шостої ін'єкції ПТ та два рази після восьмої ін'єкції порівняно з аналогічними величинами у контрольних тварин.

Уведення похідних ГАМК у дозах 50 мг/кг призводило до зменшення частоти судомних розрядів у півтора–три рази, причому після останньої ін'єкції ПТ даний показник при введенні ІПМ був удвічі

меншим, ніж у тварин, яким вводили ПМ. Тривалість судомних розрядів у цих тварин не збільшувалась і після останніх уведень ПТ відрізнялася від аналогічного показника у контрольних тварин у шість–16 разів. На тлі попереднього введення похідних ГАМК у дозі 50 мг/кг та генерації регулярних піків у корі судомні прояви обмежувались у більшості тварин лише міофасціальними здриганнями. Середня тяжкість судом при завчасному введенні ПМ та ІПМ складала 1.33 ± 0.58 та 1.0 ± 0.0 бала відповідно.

Отже, судомні прояви у щурів, котрим попередньо системно вводили ПМ та ІПМ в умовах прискореного формування ПТ-індукованої ЕФА, були істотно менш вираженими порівняно з аналогічними проявами в контрольній групі. Розвиток регулярної пікової активності в корі, особливо на тлі попереднього введення ПМ та ІПМ, може бути фактором, що модулює судомну активність. Судоми, котрі формувалися під час генерації пікової кортикальної активності, були менш інтенсивними. В умовах уведення ПМ частота та тривалість епілептиформних розрядів знижувалися лише в разі використання препарату в дозі 50 мг/кг. При попередньому введенні ІПМ навіть у меншій дозі (20 мг/кг) щурам, у котрих генерувалися регулярні кортикальні піки, частота та тривалість судомних ПХР були меншими. Максимальне зменшення інтенсивності судом на тлі значного зниження частоти та тривалості епілептиформних судомних розрядів реєстрували в разі введення ІПМ у дозі 50 мг/кг.

У механізмах реалізації ефектів ПМ та його похідних можна виділити дві ланки – нейромедіаторну і метаболічну [1, 6]. Нейромедіаторний механізм включає в себе вплив насамперед на ГАМК-ергічну систему. Крім того, ПМ пригнічує активність MAO і ацетилхолінестерази, активує процеси аеробного та анаеробного окиснення, збільшує енергетичний статус клітин головного мозку, активує антиоксидантну систему. ПМ використовують як церебропротектор при цілій низці патологічних і пограничних станів [7]. Застосування ІПМ з метою справити протекторну протисудомну дію виявилось в наших експериментах більш ефективним.

Дослідження були проведені згідно з положеннями Міжнародної конвенції із захисту тварин, яких використовують в експериментах (Страсбург, 1985), а також згідно з положеннями Комісії з біоетики Одеського національного медичного університету МОЗ України та Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова.

Автори цієї статті – О. В. Денисенко, О. А. Шандра,

Л. М. Карпов і Л. І. Сьомік – підтверджують, що в них немає конфлікту інтересів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Т. А. Воронина, С. Б. Середенин, “Ноотропные и нейропротекторные средства”, *Эксперим. и клин. фармакология*, **70**, № 4, 44-58 (2007).
2. О. В. Денисенко, О. А. Шандра, Т. В. Бузика, Л. М. Карпов, “Вплив кіркового електроподразнення, ізопікамілону і карбамазепіну на інтеріктальну спайкову активність лобної кори і гіпокампа при моделюванні фокальної епілепсії у щурів”, *Досягнення біології та медицини*, **16**, № 2, 40-45 (2010).
3. О. В. Денисенко, О. А. Шандра, Т. В. Бузика, Л. М. Карпов, “Вплив ізопікамілону на пікротоксин-індуковану генералізовану судомну активність у мишей та щурів”, у кн.: *Природн. альманах. Біол. науки*, Вип. 15, ПП Вишемирський, Херсон (2011), с. 43-52.
4. О. В. Денисенко, О. А. Шандра, Л. М. Карпов, “Эффекты введения изопикамилону та пікамілону в умовах формування пікротоксин-індукованої генералізованої активності у щурів”, *Досягнення біології та медицини*, **20**, № 2, 35-40 (2012).
5. В. М. Копелевич, Л. Н. Буланова, И. А. Григорьев и др., “Синтез, психотропные и гипотензивные свойства новых производных пикамилоната”, *Хим.-фарм. журн.*, **31**, № 10, 30-33 (1997).
6. Р. С. Мирзоян, “Нейропротекторные и цереброваскулярные эффекты ГАМК-миметиков”, *Эксперим. клин. фармакология*, **66**, № 2, 53-56 (2003).
7. *Пикамилон – метаболический цереброваскулятор и ноотроп. Применение в лечебной практике*, Акрихин, Москва (2002).
8. L. Kruger, S. Saporta, and W. Larry, *Photographic Atlas of the Rat Brain: The Cell and Fiber Architecture Illustrated in Three Planes with Stereotaxic Coordinates*, Cambridge Univ. Press, Cambridge (1995).
9. А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов, *Киндлинг и эпилептическая активность*, АстроПринт, Одесса (1999).