

Басок Степан Степанович - к.хім.н., ст. наук. співроб. Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського; +38 050 395-36-38
 Артеменко Анатолій Григорович - к.хім.н., ст. наук. співроб. Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського; +38 068 252-21-89

Кузьмін Віктор Євгенович - д.хім.н., проф. Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського; +38 068 252-20-09

© Вастьянов Р.С., Стрельнікова Ю. С.

УДК: 612.017.1:612.8.062;612.821.7+616.853

Вастьянов Р.С., Стрельнікова Ю.С.

Одеський національний медичний університет, кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології (Валіховський пров., 2, м. Одеса, Україна, 65082)

ПІДСИЛЕННЯ ПРОТИСУДОМНОЇ ДІЇ ЛЕВЕТИРАЦЕТАМУ ЗАСТОСУВАННЯМ РЕКОМБІНАНТНОГО АНТАГОНІСТУ ІНТЕРЛЕЙКІН-1 РЕЦЕПТОРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ СУДОМНОМУ СИНДРОМУ

Резюме. Подані дані експериментальних досліджень, які висвітлюють особливості протисудомної дії леветирацетаму (ЛЕВ) на тлі блокади інтерлейкінових рецепторів за умов різних моделей хронічного судомного синдрому. Показано, що в разі сумісного введення ЛЕВ та рекомбінантного антагоністу інтерлейкін-1 рецепторів (РАІЛ) посилюється вираженість протисудомної дії ЛЕВ за умов кіндлінгу. Протисудомна сполука за вказаних умов реалізує свою активність також і за умов посткіндлінгу. Автори зробили висновок про пригнічення хронічного судомного синдрому при блокаді інтерлейкінових рецепторів, а також розвитку на цьому тлі більш вираженої протисудомної ефективності ЛЕВ.

Ключові слова: рекомбінантний антагоніст інтерлейкін-1 рецепторів, леветирацетам, кіндлінг, посткіндлінг, хронічний судомний синдром.

Вступ

Показано виражені протисудомні ефекти леветирацетаму (ЛЕВ) у хворих із фокальними парціальними судомами [16], у хворих із судомами, спричиненими пухлинами мозку [9, 18], при посттравматичних судомах [14, 15], а також при наявності судом у дітей [10, 11].

За експериментальних умов ЛЕВ пригнічував судомні реакції при спонтанних та рекурентних формах епілепсії [8], а також при амігдаллярному кіндлінзі [13]. Відзначено, що ЛЕВ не впливав на пілокарпін-спричинені іктальні судомні спайки [12]. В механізмах реалізації протисудомної дії препарату відзначають пригнічення гіперекспресії цитокінів та факторів росту, а саме - фактору некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-10, мозковий нейротрофічний фактор, нейропептид Y [6, 13, 17].

Показано пригнічення гострих генералізованих судом, а також кіндлінг-спричиненої судомної активності внаслідок блокади інтерлейкін-1 (ІЛ-1) рецепторів внаслідок застосування рекомбінантного антагоністу інтерлейкіну-1 (РАІЛ) [2, 4].

Зважаючи на викладені вище дані стосовно залучення активації системи цитокінів до реалізації протисудомної дії ЛЕВ, ми врахували доцільним перевірити його ефективність за експериментальних умов хронічного судомного синдрому в разі блокади цитокінових рецепторів, оскільки і запалення, і цитокінова гіперекспресія вважаються зараз одними із патогенетичних механізмів епілептогенезу [1, 3, 19].

Мета роботи - дослідження інтенсивності хронічної судомної активності за умов пікротоксин (ПКТ) - індукованого кіндлінга та посткіндлінг за умов застосування

ЛЕВ на тлі блокади ІЛ-1 рецепторів введенням РАІЛ.

Матеріали та методи

Досліди були проведені за умов хронічного експерименту на щурах-самцях лінії Вістар масою 180-250 г. Роботу з експериментальними тваринами проводили відповідно вимог вітчизняних та міжнародних рекомендацій стосовно використання лабораторних тварин у експериментальних дослідженнях (Конвенція Ради Європи, 1986; Закон України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 21.02.2006, №3447-IV), а також комісії з біоетики ОНМедУ.

Для відтворення хронічного судомного синдрому використовували моделі хімічного кіндлінгу, який відтворювали шляхом 24-добового введення ПКТ ("Sigma-Aldrich", Німеччина) підпороговою дозою в діапазоні від 0,9 до 1,1 мг/кг [5], а також посткіндлінгу, який відтворювали, утримуючи кіндлінгових щурів без судомних впливів протягом 14 діб після моделювання кіндлінгу [7].

Леветирацетам (ЛЕВ; Tokyo Chemical Industry Co. Ltd, Япон) вводили внутрішньоочеревинно (в/очер) дозами 100 та 200 мг/кг щурам зі сформованим кіндлінгом та посткіндлінгом. Дози сполуки були обрані, виходячи з даних [6, 8].

Рекомбінантний антагоніст інтерлейкіну-1 (РАІЛ; НДІ особливо чистих препаратів, Санкт-Петербург, РФ) за умов вказаних моделей хронічного судомного синдрому вводили щурам в/очер. дозами 7,5 та 10,0 мг/кг за 30 хв. до введення епілептогену (були обрані лише ефективні дози).

Автори висловлюють подяку за люб'язно наданий РАІЛ

завідувачу кафедри неврології Першого Санкт-Петербурзького державного медичного університету ім. І.П. Павлова професору, академіку РАН Олександрю Онисимовичу Скоромцю.

Досліджували вплив РАІЛ та ЛЕВ (Tokyo Chemical Industry Co. Ltd, Japan; в/очер., 100 та 200 мг/кг) окремо, а також вплив їх сумісного введення на вираженість ПКТ-індукованих судом у щурів зі сформованим кіндлінгом та посткіндлінгом, а також його вплив на процес формування ПКТ-індукованого кіндлінгу.

Після ін'єкції ПКТ щурів поміщали в індивідуальні прозорі пластмасові камери (10 см x 25 см x 30 см) і спостерігали протягом 30 хв. Судоми визначали візуально й оцінювали за 6-бальною шкалою [5]. Підраховували також число щурів з тонічною екстензією задніх кінцівок (ТЕЗК). У кожній дослідній групі було не менше 9 щурів.

Отримані результати обчислювали статистично із застосуванням параметричного критерію АНОВА, який супроводжувався у якості відповідності критерієм Ньюман-Кулза, та параметричного критерію Крушквал-Валліса. Мінімальну статистичну вірогідність визначали при $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

Пікротоксин-індуковані судоми в щурів через 24 год. після останньої 24-ї ін'єкції конвульсанту характеризувалися переважно генералізованими клоніко-тонічними нападами в тому числі й повторними (у 3 щурів із 9), з розвитком післянападової депресії та вегетативними розладами (табл. 1). Введення ЛЕВ дозою 100 мг/кг не змінило інтенсивності кіндлінгових судом в щурів та не вплинуло на латентний період судомних реакцій (в обох випадках $p > 0,05$). Кіндлінгові судоми в щурів після введення ЛЕВ дозою 200 мг/кг характеризувалися розвитком генералізованих судомних нападів у 4 тварин із 12, що виявило меншу інтенсивність судом, ніж у кіндлінгових щурів ($p < 0,05$). Латентний період перших судом при цьому навпіл перевищував відпов-

ідний показник у кіндлінгових щурів ($p < 0,05$).

Вираженість кіндлінгових судом у щурів після введення РАІЛ дозою 7,5 мг/кг була співставною з такими показниками у кіндлінгових щурів ($p > 0,05$). Інтенсивність судом в кіндлінгових щурів в разі сумісного введення ЛЕВ та РАІЛ була суттєво менше, ніж у кіндлінгових тварин ($p < 0,05$) та менше, ніж у кіндлінгових щурів, яким вводили РАІЛ ($p < 0,01$). Латентний період судом за таких умов суттєво перевищував відповідні показники у кіндлінгових щурів та у кіндлінгових щурів, яким вводили РАІЛ (в обох випадках $p < 0,05$; табл. 1).

За умов блокади ІЛ-1 рецепторів введенням РАІЛ дозою 10 мг/кг інтенсивність кіндлінгових судом та їх латентний період суттєво розрізнялися з такими показниками у кіндлінгових щурів (в обох випадках $p < 0,05$). Пікротоксин-спричинені кіндлінгові судоми в разі сумісного введення РАІЛ (10 мг/кг) та ЛЕВ мали ще меншу інтенсивність та ще більший латентний період маніфестації (в обох випадках $p < 0,01$).

Пікротоксин-індуковані судоми в щурів за умов посткіндлінгу мали середню інтенсивність $4,2 \pm 0,4$ бали, що не відрізнялося від таких показників у кіндлінгових щурів (рис. 1). Показники інтенсивності посткіндлінгових судом при роздільних введеннях ЛЕВ та РАІЛ також були співставні з такими показниками в щурів з кіндлінгом та посткіндлінгом (в усіх випадках $p > 0,05$). За таких умов по 8 із 12 щурів в групах демонстрували ТЕЗК ($p > 0,05$ порівняно з посткіндлінгом). Середня інтенсивність судом в групі посткіндлінгових щурів у разі сумісного введення РАІЛ та ЛЕВ дорівнювала $3,0 \pm 0,3$ бали, що було менше у щурів з посткіндлінгом без введень аніяких сполук ($p < 0,05$). Лише в 4 тварин цієї групи реєстрували ТЕЗК, що також мало статистичну вірогідність порівняно з таким показником у щурів з посткіндлінгом ($p < 0,05$).

Отримані результати є інтересними з декількох аспектів. По-перше, вони підтверджують отримані нами дані про розвиток протисудомних ефектів за умов бло-

Таблиця 1. Вплив внутрішньоочеревинних введень РАІЛ та леветирацетаму на вираженість кіндлінг-індукованих судом.

Групи щурів, кількість тварин	Число щурів з судомами інтенсивністю						Р, порівняно з контролем	Латентний період судомних реакцій, $M \pm m$, сек.
	0	1	2	3	4	5		
Кіндлінг, n=9	0	0	0	0	6	3	$>0,05$	$9,7 \pm 0,8$
Кіндлінг + леветирацетам (100 мг/кг), n=12	0	0	0	2	9	1	$>0,05$	$11,9 \pm 1,1$
Кіндлінг + леветирацетам (200 мг/кг), n=12	0	0	2	6	4	0	$<0,05$	$15,1 \pm 1,3^*$
Кіндлінг + РАІЛ (7,5 мг/кг), n=12	0	0	0	0	10	2	$>0,05$	$10,1 \pm 0,9$
Кіндлінг + РАІЛ (7,5 мг/кг) + леветирацетам (200 мг/кг), n=9	0	0	0	4	5	0	$<0,05, <0,01\#$	$16,2 \pm 1,5^*\#$
Кіндлінг + РАІЛ (10 мг/кг), n=12	0	0	0	6	6	0	$<0,05$	$13,2 \pm 0,9^*$
Кіндлінг + РАІЛ (10 мг/кг) + леветирацетам (200 мг/кг), n=9	0	0	0	5	4	0	$<0,01$	$17,3 \pm 1,5^{**}$

Примітки: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ - вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з такими даними в кіндлінгових щурів (статистичний критерій АНОВА); # - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими даними в кіндлінгових щурів, яким вводили РАІЛ дозою 7,5 мг/кг.

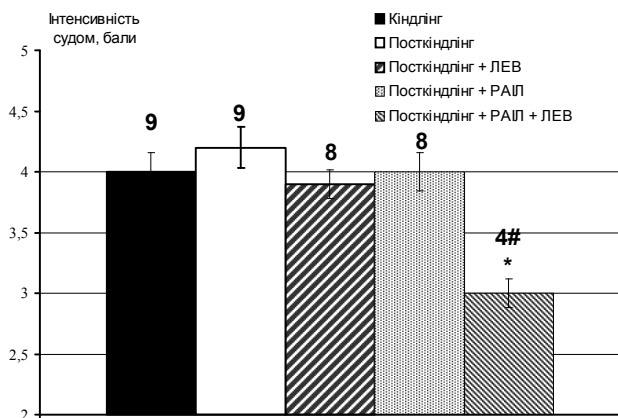


Рис. 1. Вплив внутрішньоочеревинних введень РАІЛ та леветирацетаму на інтенсивність судомних реакцій при посткіндлінзі.

Примітка: цифри понад стовпчиками означають числа тварин з тонічною екстензією задніх кінцівок; * - $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності показника порівняно з таким показником у щурів з посткіндлінгом; # - $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності числа тварин з тонічною екстензією задніх кінцівок порівняно з таким показником у щурів з посткіндлінгом (в обох випадках вірогідність обчислювали за допомогою статистичного критерію Крускал-Валліс).

кади інтерлейкінових рецепторів [2] та демонструють можливість його маніфестації за умов кіндлінг-спричиненого хронічного судомного синдрому. По-друге, інтересним виглядає факт посилення протисудомної дії ЛЕВ на тлі блокади ІЛ-1 рецепторів, що ми виявили та простежили на моделі ПКТ-індукованого кіндлінга. При цьому навіть при застосуванні РАІЛ неефективною раніше дозою в аспекті виявлення можливої протисудомної дії (7,5 мг/кг) було досягнуто виражений протисудомний ефект, який характеризувався зниженням інтенсивності судом та подовженням латентного періоду їх розвитку. До цього інтересно додати отримані дані стосовно превентивних ефектів блокади ІЛ-1 рецепторів щодо

формування ПКТ кіндлінгу [4], що передбачає вплив блокади цитокінових рецепторів на різні механізми епілептогенезу. По-третє, вважаємо перспективним в клінічному аспекті досягнення протисудомного ефекту за умов посткіндлінгу - моделі хронічного епілептогенезу, яка є резистентною щодо впливу антиепілептичних препаратів [7] - в разі сумісного введення ЛЕВ та РАІЛ. Протисудомний ефект був виражений зменшенням інтенсивності судом та зменшенням числа щурів з ТЕЗК. Отже, принциповим вважаємо факт розвитку протисудомної дії ЛЕВ та тлі блокади ІЛ-1 рецепторів, що має перспективи клінічного тестування у хворих на епілепсію.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. При блокаді активності інтерлейкінових рецепторів відбувається пригнічення хронічного судомного синдрому, який відтворювали за умов кіндлінгу та посткіндлінгу.

2. Введення ЛЕВ на тлі блокади активності ІЛ-1 рецепторів при експериментальному хронічному судомному синдромі спричиняє більш виражені протисудомні ефекти та надає протисудомного впливу за умов посткіндлінгу.

Таким чином, блокада активності ІЛ-1 рецепторів є тим процесом, на тлі якого якісніше реалізується протисудомна дія ЛЕВ, що, по-перше, висвітлює перспективи його комплексного клінічного застосування у хворих з резистентними формами епілепсії та, по-друге, підтверджує патогенетичну обґрунтованість блокади рецепторів ІЛ-1 при складанні схеми комплексного антиепілептичного лікування. Перспективи подальших розробок полягають в продовженні тестування протисудомної активності РАІЛ за умов хронічної форми ЕпА в експерименті, а також в з'ясуванні механізмів реалізації антиепілептичної дії сполуки.

Список літератури

1. Вастьянов Р. С. Взаємозв'язок епілепсії та запалення / Р. С. Вастьянов, А. А. Олійник, О. А. Шандра // Інтегративна антропологія. - 2006. - № 1 (7). - С. 34-41.
2. Вастьянов Р. С. Виразеність гострих генералізованих судом за умов блокади інтерлейкін-1-бета рецепторів / Р. С. Вастьянов, Ю. С. Стрельнікова // Biomedical and Biosocial Anthropology. - 2015. - № 25. - С. 76-81.
3. Вастьянов Р. С. Патологічні механізми епілептичної активності при хронічній епілепсії (експериментальне дослідження): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: спец. 14.03.04 "Патологічна фізіологія" / Р. С. Вастьянов. - Одеса, 2013. - 35 с.
4. Стрельнікова Ю. С. Вплив рекомбі-
5. Шандра А. А. Кіндлінг и эпилептическая активность / Шандра А. А., Годлевский Л. С., Брусенцов А. И. - Одесса: Астропринт, 1999. - 191 с.
6. Al-Shorbagy M. Y. Additional antiepileptic mechanisms of levetiracetam in lithium-pilocarpine treated rats / M. Y. Al-Shorbagy, B. M. El Sayeh, D. M. Abdallah // PLoS One. - 2013. - Vol. 8, № 10. - e76735. doi: 10.1371
7. Chemical Kindling: Implications for Antiepileptic Drugs-Sensitive and Resistant Epilepsy Model / A. A. Shandra, A. M. Mazarati, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov // Epilepsia. - 1996. - Vol. 37, № 3. - P. 269-274.
8. Effects of the novel antiepileptic drug levetiracetam on spontaneous recurrent seizures in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy / M. Glien, C. Brandt, H. Potschka, W. Loscher // Epilepsia. - 2002. - Vol. 43. - P. 350-357.
9. Efficacy and safety of prophylactic levetiracetam in supratentorial brain tumour surgery: a systematic review and meta-analysis / C. Pourzitaki, G. Tsaousi, E. Apostolidou [et al.] // Br. J. Clin. Pharmacol. - 2016. - Mar 5. doi: 10.1111/bcp.12926.
10. Intravenous levetiracetam in acute repetitive seizures and status epilepticus in children: Experience from a children's hospital / A. Mc Tague, R. Kneen, R. Kumar [et al.] // Seizure. - 2012. - Vol. 21. - P. 529-534.
11. Intravenous levetiracetam in critically

- ill children / F. Incecik, O. O. Horoz, O. M. Herguner [et al.] // Ann. Indian Acad. Neurol. - 2016. - Vol. 19, № 1. - P. 79-82.
12. Intravenous levetiracetam in the rat pilocarpine-induced status epilepticus model: behavioral, physiological and histological studies / Y. Zheng, J. Moussally, S. S. Cash [et al.] // Neuropharmacology. - 2010. - Vol. 58. - P. 793-798.
13. Levetiracetam prevents changes in levels of brain-derived neurotrophic factor and neuropeptide Y mRNA and of Y1- and Y5-like receptors in the hippocampus of rats undergoing amygdala kindling: implications for antiepileptogenic and mood-stabilizing properties / H. Husum, T. G. Bolwig, C. Sanchez [et al.] // Epilepsy Behav. - 2004. - Vol. 5. - P. 204-215.
14. Levetiracetam prophylaxis ameliorates seizure epileptogenesis after fluid percussion injury / Y. H. Chen, E. Y. Huang, T. T. Kuo [et al.] // Brain Res. - 2016. - Vol. 1642. - P. 581-589.
15. Levetiracetam seizure prophylaxis in craniotomy patients at high risk for postoperative seizures / S. Gokhale, S. A. Khan, A. Agrawal [et al.] // Asian J. Neurosurg. - 2013. - Vol. 8, № 4. - P. 169-173.
16. Levetiracetam vs. brivaracetam for adults with refractory focal seizures: A meta-analysis and indirect comparison / L. Zhang, S. Li, H. Li, X. Zou // Seizure. - 2016. - Vol. 39. - P. 28-33.
17. Levetiracetam: the profile of a novel anticonvulsant drug-part I: preclinical data / T. de Smedt, R. Raedt, K. Vonck, P. Boon // CNS Drug Rev. - 2007. - Vol. 13. - P. 3-56.
18. Nasr Z. G. Levetiracetam for seizure prevention in brain tumor patients: a systematic review / Z. G. Nasr, B. Paravattil, K. J. Wilby // J. Neurooncol. - 2016. - May 11. [Epub ahead of print]
19. Vezzani A. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence / A. Vezzani, T. Granata // Epilepsia. - 2005. - Vol. 46. - P. 1724-1743.

Вастьянов Р.С., Стрельникова Ю.С.

УСИЛЕНИЕ ПРОТИВОСУДОРОЖНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕВЕТИРАЦЕТАМА ВВЕДЕНИЕМ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТАГОНИСТА ИНТЕРЛЕЙКИН-1 РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ СУДОРОЖНОМ СИНДРОМЕ

Резюме. Представлены данные экспериментальных исследований, которые показывают особенности противосудорожного действия леветирацетама (ЛЕВ) на фоне блокады интерлейкиновых рецепторов в условиях различных моделей хронического судорожного синдрома. Показано, что при совместном введении ЛЕВ и рекомбинантного антагониста интерлейкин-1 рецепторов (РАИЛ) усиливается выраженность противосудорожного действия ЛЕВ в условиях киндлинга. Противосудорожный препарат при данных условиях реализует свою активность также и в условиях посткиндинга. Авторы сделали вывод об угнетении хронического судорожного синдрома при блокаде интерлейкиновых рецепторов, а также развитии на этом фоне более выраженной противосудорожной эффективности ЛЕВ.

Ключевые слова: рекомбинантный антагонист интерлейкин-1 рецепторов, леветирацетам, киндлинг, посткиндинг, хронический судорожный синдром.

Vastyanov R.S., Strelnikova Yu.S.

LEVETIRACETAM ANTIEPILEPTIC EFFICACY INCREASING USING RECOMBINANT INTERLEUKIN-1 RECEPTORS ANTAGONIST IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL CHRONIC CONVULSIVE SYNDROME

Summary. The data of experimental trials are given showing the peculiarities of the levetiracetam (LEV) anticonvulsive efficacy on the background of interleukin receptor blockade in conditions of chronic seizure syndrome different models. LEV and recombinant antagonist of interleukin-1-beta (RAIL) co-administration were shown to enhance the LEV anticonvulsive activity in kindled condition. The compound in such conditions also realizes its activity in postkindling model. The authors concluded the oppression of chronic seizures with interleukin receptor blockade, as well as development on this background, a more pronounced anticonvulsant effectiveness of LEV. Authors concluded about the chronic convulsive syndrome suppression in conditions of interleukin receptor blockade as well as more pronounced LEV anticonvulsant efficacy development on this background.

Key words: recombinant interleukin-1 receptors antagonist, levetiracetam, kindling, postkindling, chronic convulsive syndrome.

Рецензент - д.мед.н., проф. Гунас І.В.

Стаття надійшла до редакції 24.12.2015 р.

Вастьянов Руслан Сергійович - д.мед.н., проф., зав. кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; +38 067 734-74-99; vastyanov@mail.ru

Стрельникова Юлія Сергіївна - здобувач кафедри кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; +38 033 114-75-83; 13yula13@mail.ru

© Чаплик-Чижо І. О.

УДК: 612.66/.661:616.5-002.3

Чаплик-Чижо І. О.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна)

МОДЕЛЮВАННЯ ЗА ДОПОМОГОЮ ДИСКРИМІНАНТНОГО АНАЛІЗУ МОЖЛИВОСТІ ЗАХВОРЮВАННЯ НА ПІОДЕРМІЇ ЧОЛОВІКІВ І ЖІНОК ЗАЛЕЖНО ВІД ОСОБЛИВОСТЕЙ БУДОВИ ТА РОЗМІРІВ ТІЛА

Резюме. В статті описані побудовані, за допомогою дискримінантного аналізу, моделі можливості захворювання на піодермію чоловіків і жінок західного регіону України в залежності від особливостей будови та розмірів тіла. Доведена неви-