

О. Д. Мовчан

Протисудомна активність підвищених доз антиконвульсантів на тлі сформованої толерантності

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію, топірамат, толерантність, терапевтична резистентність, підвищені дози антиконвульсантів

Проблема ефективного лікування епілепсії залишається однією з найактуальніших і складних проблем неврології та психіатрії. Незважаючи на значні успіхи у вивченні етіології, патогенезу, клініки та лікування епілепсії, понад 30 % хворих виявляють резистентність до фармакотерапії через розвиток толерантності (набута резистентність) [1–3].

У випадках, коли розвивається терапевтична резистентність до дії протисудомних препаратів, у клініці часто йдуть шляхом підвищення дози антиконвульсанта до максимально переносної. У той самий час сьогодні відсутнє експериментальне обґрунтування зазначеного підходу, у першу чергу, стосовно лікування малих клінічних форм епілепсії, експериментальним еквівалентом яких є хемоконвульсанти моделі судомних станів.

Мета дослідження – експериментальна перевірка протисудомної активності антиконвульсантів у дозах, які на 50 % перевищують ефективні протисудомні, на тлі сформованої толерантності до них. Полуторна доза була обрана виходячи з того, щоб вона не була заздалегідь токсичною чи малоефективною.

Матеріали та методи. Експерименти проведені на нелінійних білих мишах масою 18–20 г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс». Утримання лабораторних тварин здійснювали відповідно до чинних вимог [4]. Усі дослідження проводили відповідно до правил «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тва-

рин, яких використовують з експериментальною та іншою метою» (м. Страсбург, 1986 р.) [5] за погодженням з Комісією з біоетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України».

Судомні стани моделювали внутрішньоочеревинним (в/о) введенням коразолу в дозі 100 мг/кг (у випадку вивчення фенобарбіталу, карбамазепіну та вальпроату натрію) або тіосемікарбазиду в дозі 20 мг/кг (у випадку вивчення топірамату).

Для формування толерантності антиконвульсанти вводили внутрішньоочеревинно (в/о) в ефективних протисудомних дозах щоденно протягом 7 (фенобарбітал – 20 мг/кг) або 14 днів (карбамазепін – 125 мг/кг, вальпроат натрію – 155 мг/кг, топірамат – 300 мг/кг) [6, 7]. Тестування проводили через 1 добу після формування толерантності (на 8 день у разі застосування фенобарбіталу та на 15 день у разі застосування інших антиконвульсантів). У день тестування як нетолерантні, так і толерантні тварини одноразово отримували в ефективних дозах фенобарбітал, карбамазепін або вальпроат натрію за 1 год до введення коразолу, а у випадку сформованої толерантності до топірамату – ефективну або підвищену дозу препарату одночасно з введенням конвульсанта тіосемікарбазиду. Реєстрували кількість загиблих тварин, кількість тварин з наявністю судом у відсотках та оцінювали вираженість судомного синдрому за 5-бальною шкалою [8].

Результати експериментів піддавали статистичній обробці за допомогою програми STATISTICA 6.0 з використанням t-критерію Стьюдента. Достовірними вважалися відмінності при $p \leq 0,05$ [9, 10].

Результати та їх обговорення. Фенобарбітал (20 мг/кг), карбамазепін (125 мг/кг), вальпроат натрію (155 мг/кг) повністю попереджують розвиток коразолових судом у нетолерантних тварин (контроль II) (табл. 1–3). Проте в тих самих дозах антиконвульсанти не чинять протисудомної дії у випадках, коли їх вводили толерантним тваринам (табл. 1–3).

У разі підвищення дози фенобарбіталу на 50 %, тобто до 30 мг/кг, також не виявлено достовірного протисудомного ефекту на тлі сформованої толе-

рантності до фенобарбіталу (табл. 1). У цьому випадку спостерігається лише тенденція до зменшення кількості тварин з наявністю судом і зниження вираженості судомного синдрому. Летальність склала 28,6 %, тобто загинуло 2 тварини з 7.

У разі підвищення дози карбамазепіну в 1,5 разу (з 125,0 до 187,5 мг/кг) також не спостерігали протисудомного ефекту в толерантних до дії карбамазепіну тварин (табл. 2). Крім того, у толерантних тварин реєстрували більш високу летальність, оскільки

Таблиця 1

Протисудомна ефективність фенобарбіталу

Умова досліджу	Кількість тварин з наявністю судом*	Кількість тварин з наявністю судом, %	Вираженість судомного синдрому, бал
Коразол, 100 мг/кг, в/о (контроль I)	9/10	90	4,0 ± 0
Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/о + коразол, 100 мг/кг (контроль II)	0/10	0	0 ± 0
Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/о, введений тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу + коразол, 100 мг/кг	7/7	100	3,2 ± 0,4 [◇]
Фенобарбітал, 30 мг/кг, в/о, введений тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу + коразол, 100 мг/кг	5/7	71,4	3,0 ± 0,6 [◇]

Примітка. Тут і в табл. 2–4: *У чисельнику – кількість тварин з наявністю судом, у знаменнику – кількість тварин у досліді, [◇]p < 0,05 відносно контролю II.

Таблиця 2

Протисудомна ефективність карбамазепіну

Умова досліджу	Кількість тварин з наявністю судом*	Кількість тварин з наявністю судом, %	Вираженість судомного синдрому, бал
Коразол, 100 мг/кг, в/о (контроль I)	9/10	90	4,0 ± 0
Карбамазепін, 125 мг/кг, в/о + коразол, 100 мг/кг (контроль II)	0/8	0	0 ± 0
Карбамазепін, 125 мг/кг, в/о, введений тваринам, толерантним до дії карбамазепіну + коразол, 100 мг/кг	7/7	100	4,0 ± 0 [◇]
Карбамазепін, 187,5 мг/кг, в/о, введений тваринам, толерантним до дії карбамазепіну + коразол, 100 мг/кг	7/7	100	4,0 ± 0 [◇]

в цій групі загинуло 6 тварин з 7 (тобто 85,7 %) за відсутності загибелі в групі нетолерантних тварин.

У толерантних до вальпроату натрію тварин підвищення дози антиконвульсанта (з 155,0 до 232,5 мг/кг) також неефективне з летальністю 85,7 % (табл. 3).

У нетолерантних тварин топірамат у дозі 300 мг/кг повністю попереджує розвиток тіосемікарбазидних судом (табл. 4). Препарат, уведений у такій самій дозі толерантним тваринам, не попереджує розвиток судом. Але в разі

його застосування знижується вираженість судомного синдрому з ($4,0 \pm 0$) бала в нетолерантних тварин до ($2,8 \pm 0,3$) бала в толерантних ($p < 0,05$). Проте наявність судом та їхня вираженість достовірно відрізняються від таких у групі нетолерантних тварин, яким топірамат вводили в дозі 300 мг/кг (табл. 4). Аналогічну картину спостерігали в разі підвищення дози топірамату в 1,5 разу, тобто до 450 мг/кг. У толерантних тварин ця доза препарату також не попереджала розвиток тіосемікарбазидних судом, хоча й знижувала

Таблиця 3

Протисудомна ефективність вальпроату натрію

Умова досліджу	Кількість тварин з наявністю судом*	Кількість тварин з наявністю судом, %	Вираженість судомного синдрому, бал
Коразол, 100 мг/кг, в/о (контроль I)	9/10	90	$4,0 \pm 0$
Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/о + коразол, 100 мг/кг (контроль II)	0/10	0	0 ± 0
Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/о, введений тваринам, толерантним до дії вальпроату натрію + коразол, 100 мг/кг	7/7	100	$4,0 \pm 0^{\diamond}$
Вальпроат натрію, 232,5 мг/кг, в/о, введений тваринам, толерантним до дії вальпроату натрію + коразол, 100 мг/кг	7/7	100	$4,0 \pm 0^{\diamond}$

Таблиця 4

Протисудомна ефективність топірамату

Умова досліджу	Кількість тварин з наявністю судом*	Кількість тварин з наявністю судом, %	Вираженість судомного синдрому, бал
Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/о (контроль I)	10/10	100	$4,0 \pm 0$
Топірамат, 300 мг/кг, в/о + тіосемікарбазид, 20 мг/кг (контроль II)	0/10	0	0 ± 0
Топірамат, 300 мг/кг, в/о, введений тваринам, толерантним до дії топірамату + тіосемікарбазид, 20 мг/кг	7/7	100	$2,8 \pm 0,3^{\# \diamond}$
Топірамат, 450 мг/кг, в/о, введений тваринам, толерантним до дії топірамату + тіосемікарбазид, 20 мг/кг	7/7	100	$2,5 \pm 0,6^{\# \diamond}$

Примітка. * $p < 0,05$ відносно контролю I.

їхню вираженість з $(4,0 \pm 0)$ бала в контролі до $(2,5 \pm 0,6)$ ($p < 0,05$) у досліді (табл. 4). Загинула 1 тварина з 7, що становить 14,3 %.

Висновки

1. Підвищені на 50 % відносно ефективних протисудомні дози фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпро-

ату натрію й топірамату не попереджують розвиток судомного синдрому в толерантних тварин.

2. Даний підхід не може бути застосований для подолання терапевтичної резистентності з метою підвищення ефективності фармакотерапії малих клінічних форм епілепсії.

1. Громов Л. А. Толерантность (терапевтическая резистентность) к действию лекарственных препаратов / Л. А. Громов // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – № 12. – С. 39–41.
2. Литовченко Т. А. Резистентные эпилепсии: причины и методы лечения / Т. А. Литовченко // НейроNews. – 2010. – № 6. – С. 21–26.
3. Comparative efficacy and tolerability of anti-epileptic drugs for refractory focal epilepsy: systematic review and network meta-analysis reveals the need for long term comparator trials / P. N. Bodalia, A. M. Grosso, R. Sofat [et al.] // Br J. Clin Pharmacol. – 2013. – V. 76 (5). – P. 649–667.
4. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.]. – Київ, 2002. – 155 с.
5. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. – Strasbourg, 1986 – 53 p.
6. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. В. Гацура. – Москва : Медицина, 1974. – 142 с.
7. Macdonald R. L. Principles of antiepileptic drug action // Antiepileptic drugs : Ed. R. H. Levy, R. H. Mattson, B. S. Meldrum / R. L. Macdonald, B. S. Meldrum. – New York : Raven Press, Ltd, 1995. – P. 61–77.
8. Крыжановский Г. Н. Киндлинг как модель формирования эпилептической активности / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский // Успехи физиол. наук. – 1988. – Т. 19, № 4. – С. 12–32.
9. STATISTICA 6. Статистический анализ данных / А. А. Халафян. – Москва : Бином-Пресс, 2007. – 512 с.
10. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – Киев : Морион, 2001. – 314 с.

О. Д. Мовчан

Протисудомна активність підвищених доз антиконвульсантів на тлі сформованої толерантності

При формуванні терапевтичної резистентності до дії протисудомних засобів у клініці часто йдуть шляхом підвищення дози антиконвульсантів до максимально переносної. У той самий час сьогодні відсутнє експериментальне обґрунтування зазначеного підходу, у першу чергу, стосовно лікування малих клінічних форм епілепсії, експериментальним еквівалентом яких є хемоконвульсантні моделі судомних станів.

Мета дослідження – проведення експериментальної перевірки протисудомної активності антиконвульсантів у дозах, які на 50 % перевищують ефективні протисудомні, на тлі сформованої толерантності до них.

Досліди проводили на білих мишах, нетолерантних та толерантних до дії антиконвульсантів. Судомні стани моделювали введенням відомих консультантів (коразолу, 100 мг/кг) або тіосемікарбазиду (20 мг/кг). Реєстрували кількість тварин з наявністю судом та вираженість судомного синдрому.

Встановлено, що підвищені дози фенобарбіталу (30,0 мг/кг), карбамазепіну (187,5 мг/кг), вальпроату натрію (232,5 мг/кг) та топірамату (450,0 мг/кг) не попереджують розвиток судомного синдрому в толерантних тварин. Це свідчить про те, що збільшення дози протисудомного засобу в разі сформованої до нього толерантності не забезпечує терапевтичного ефекту.

Ключові слова: фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію, топірамат, толерантність, терапевтична резистентність, підвищені дози антиконвульсантів

Е. Д. Мовчан

Противосудорожная активность повышенных доз антиконвульсантов на фоне сформированной толерантности

При формировании терапевтической резистентности к действию противосудорожных средств в клинике часто идут по пути повышения дозы антиконвульсантов к максимально переносимой. В то

же время на сегодня отсутствует экспериментальное обоснование указанного подхода, в первую очередь, относительно лечения малых клинических форм эпилепсии, экспериментальным эквивалентом которых являются хемоконвульсантные модели судорожных состояний.

Цель исследования – проведение экспериментальной проверки противосудорожной активности антиконвульсантов в дозах, которые на 50 % превышают эффективные противосудорожные, на фоне сформированной толерантности к ним.

Опыты проводили на белых мышах, нетолерантных и толерантных к действию антиконвульсантов. Судорожные состояния моделировали введением известных конвульсантов (коразола, 100 мг/кг) или тиосемикарбазида (20 мг/кг). Регистрировали количество животных с наличием судорог и выраженность судорожного синдрома.

Установлено, что повышенные дозы фенобарбитала (30,0 мг/кг), карбамазепина (187,5 мг/кг), вальпроата натрия (232,5 мг/кг) и топирамата (450,0 мг/кг) не предупреждают развитие судорожного синдрома у толерантных животных. Это свидетельствует о том, что увеличение дозы противосудорожного средства при сформировавшейся к нему толерантности не обеспечивает терапевтический эффект.

Ключевые слова: фенобарбитал, карбамазепин, вальпроат натрия, топирамат, толерантность, терапевтическая резистентность, повышенные дозы антиконвульсантов

O. D. Movchan

The anticonvulsant action of increased doses of antiepileptic drugs on the background of formed tolerance

An increased doses of anticonvulsant to the maximum tolerated are often used in the clinic if formation the therapeutic resistance to its action. Meanwhile, today there is no experimental basis to such approach primarily as to the treatment of petit mal seizures. Their equivalents are the experimental models of convulsive states using a chemoconvulsants.

The aim of the research was to verify experimentally an anticonvulsant action of drugs in doses which 50 % exceeded the effective anticonvulsant doses. The experiments were performed on white mice, intolerant and tolerant to the action of anticonvulsants. There was formed tolerance to anticonvulsant drugs previously. Convulsive states were modeled by intraperitoneal injection of the known convulsant (corazol, 100 mg/kg), or thiosemicarbazide (20 mg/kg). The number of animals with the presence of seizures and its severity were recorded.

It was found that increased doses of phenobarbital (30,0 mg/kg); carbamazepine (187,5 mg/kg); depakine (232,5 mg/kg) and topiramate (450,0 mg/kg) didn't prevent the development of seizures in tolerant animals. This suggest that an increased doses of anticonvulsant drugs don't provide a therapeutic effect when therapeutic resistance has been formed.

Key words: phenobarbital, carbamazepine, depakine, topiramate, tolerance, therapeutic resistance, higher doses of anticonvulsant drugs

Надійшла: 25.03.2015 р.

Контактна особа: Мовчан О. Д., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.