

© Муратова Т.М., Годован В.В., Полясний В.О.

УДК: 616.831.31-009.24

**Муратова Т.М., Годован В.В., Полясний В.О.**

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

## ОПІАТНІ МЕХАНІЗМИ РЕАЛІЗАЦІЇ ЕФЕКТІВ ЛЕВЕТИРАЦЕТАМУ НА СПОНТАННУ ТА ВИКЛИКАНУ РУХОВУ АКТИВНІСТЬ КІНДЛІНГОВИХ ЩУРІВ

**Резюме.** У щурів лінії Вістар відтворювали кіндлінговий синдром шляхом в/очер. застосування коразолу в підпороговій дозі (25,0 мг/кг, в/очер.) протягом трьох тижнів. Через 24 год. з моменту його відтворення в тесті відкритого поля спостерігалась редукція досліджуваних показників рухової активності, яка блокувалась під впливом налоксону (10,0 мг/кг, в/очер.). Леветирacetам (200,0 мг/кг, в/очер.) знижував число епізодів грумінгу у кіндлінгових щурів і цей ефект усувався на тлі використання налоксону. Позо-тонічні реакції у кіндлінгових щурів характеризувались перевалюванням опіоїд-детермінованих проявів і під впливом леветирacetаму спостерігалось збільшення числа щурів з екзофтальмом (до 66,7%), високим тонусом хвоста та здатністю утримувати позу "місток" (до 86,7%). Вказані ефекти леветирacetаму блокувались налоксоном (10,0 мг/кг, в/очер.).

**Ключові слова:** хімічний кіндлінг, леветирacetам, поведінка щурів.

### Вступ

Хімічний кіндлінг, як модель хронічної епілептичної активності, відрізняється зростаючими за інтенсивністю судомними проявами, що спостерігаються на протязі повторних введень підпорогових доз епілептогену, дозволяє відтворювати між нападами порушення поведінки [Годлевський, 2006; Шандра, 1999]. Протиепілептичні препарати здатні викликати впливи, які розвиваються в тому числі за рахунок модуляції активності ендогенної опіатергічної системи, активність якої є патогенетичним механізмом формування міжнападкових поведінкових порушень при хімічному кіндлінзі [Шандра, 1999]. До останнього часу не досліджено участі опіатергічних систем мозку у розвитку коригуючих впливів леветирacetаму (ЛВР) при епілептичному синдромі [Tomich, 2013]. Разом з тим, подібні дослідження є доцільними, так як препарат має протибольові властивості, а також є ефективним за умов виникнення абстинентних проявів [Meador, 2011].

Тому метою роботи було вивчення особливостей рухової активності щурів у відкритому полі, позо-тонічних реакцій у щурів з коразоловим кіндлінгом за умов використання ЛВР. Другим завданням було дослідження особливостей впливу ЛВР у відношенні до рухових реакцій експериментальних тварин за умов блокування опіатних рецепторів налоксоном.

### Матеріали та методи

Дослідження виконані за умов гострого експерименту на 74 щурах лінії Вістар масою від 180 до 270 г, у відповідності до вимог GLP та комісії з біоетики ОНМедУ (протокол № 84 від 10 жовтня 2008 р.). Результати досліджень було схвалено комісією ОНМедУ з біоетики проведення експериментальних досліджень.

Кіндлінг викликали за допомогою повторних однократних щодобових введень субконвульсивної дози коразолу (25,0 мг/кг, в/очер.) протягом трьох тижнів [Шандра, 1999]. У подальших дослідженнях спостерігали щурів,

у яких останні три ін'єкції коразолу викликали генералізовані судомні напади. Щурів спостерігали через 24 год. з моменту останнього застосування коразолу.

Щурів після 5-хв. адаптації висаджували в центрі "відкритого поля", після чого визначали показники поведінки протягом 2,0 хв. безперервного спостереження [Годлевський, 2006]. Дослідження позо-тонічних рухових реакцій здійснювали за методикою М. Myslobodsky et al. [1981].

ЛВР (UCB, Бельгія), вводили в/очер. в дозах 50,0 та 200,0 мг/кг за 30 хв. до спостереження поведінкових реакцій. Щурам групи контролю за аналогічних умов в/очер. застосовували розчин "Твін-80". Налоксон ("Dupont", США) вводили в дозі 1,0 і 10,0 мг/кг, в/очер. за 10 хв. до ЛВР. Щурам групи контролю за аналогічних умов в/очер. застосовували 0,9% розчин NaCl.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням методу one-way ANOVA та критерію Newman-Keuls.

### Результати. Обговорення

У щурів зі сформованим кіндлінгом спостерігалось виразне зниження числа пересічених квадратів - центральних в 3,6 рази, загального числа - на 39,4% ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Крім того, реєструвалось зниження числа стійок - без опори в 3,8 рази, стійок з опорою на стінку поля - в 4,3 рази ( $p < 0,05$ ). Спостерігалась тенденція до зниження решти показників, яка, однак, не досягала ступеню достовірних відмінностей ( $p > 0,05$ ).

Під впливом застосування ЛВР в дозі 50,0 мг/кг, в/очер. досліджувані показники не відрізнялись від таких в групі кіндлінгових щурів ( $p > 0,05$ ) (табл. 1). Під впливом ЛВР, який застосовували в дозі 200,0 мг/кг, в/очер. спостерігалось зниження числа пересічених квадратів порівняно до показників в групі контролю - центральних на 45,0% ( $p < 0,05$ ), та загального числа пересічених квадратів на 22,3% ( $p > 0,05$ ). При цьому також реєстру-

Таблиця 1. Вплив леветірацетаму на рухову активність інтактних та кіндлінгових щурів у тесті відкритого поля (M+m).

№ п/п	Пересічені центральні квадрати	Загальне число пересічених квадратів	Сійки без опори	Сійки з опорою	Заглядання в отвори підлоги	Грумінг	Уринації	Дефекації
1	4,0±0,6	19,3±2,4	2,3±0,4	4,3±0,6	2,4±0,4	3,2±0,6	2,4±0,3	1,5±0,4
2	1,1±0,3*	11,7±1,7*	0,6±0,3*	1,0±0,3*	1,0±0,4	2,0±0,3	1,5±0,2	1,1±0,4
3	1,3±0,3*	12,5±1,5*	0,8±0,3*	1,3±0,5*	1,2±0,4	1,8±0,5	2,1±0,4	1,3±0,3
4	2,2±0,4*	15,0±1,4	1,2±0,3*	1,7±0,5*	1,5±0,4	1,1±0,3#	1,1±0,4	1,1±0,3
5	6,8±0,77#	27,2±2,0#*	5,2±0,6#	7,2±0,7#	3,7±0,6#	3,3±0,6	2,0±0,5	2,0±0,5
6	5,6±0,8#	25,3±2,2#	4,3±0,6#	3,3±0,4#	3,1±0,6#	2,8±0,5	2,7±0,4	2,3±0,7

**Примітки:** 1 - контроль (інтактні щури); 2 - 24 год. з моменту відтворення коразолового кіндлінгу; 3 і 4 - введення леветірацетаму (50,0 і 200,0 мг/кг, в/очер. відповідно); 5 - введення налоксону в дозі 10,0 мг/кг, в/очер.; 6 - застосування налоксону (10,0 мг/кг, в/очер.) і леветірацетаму (200,0 мг/кг, в/очер.); \* -  $p < 0,05$  - щодо показників у групі контролю; # -  $p < 0,05$  - порівняно до показників у групі щурів з коразоловим кіндлінгом (метод ANOVA+ Newman-Keuls тест).

валось зниження числа вертикальних сійок без опори - на 47,8% ( $p < 0,05$ ), в той час як число вертикальних сійок з опорою було зниженим в 2,5 рази ( $p < 0,05$ ). Крім того, число епізодів грумінгу було нижчим від такого у щурів групи контролю в 2,9 рази ( $p < 0,05$ ). При цьому число епізодів грумінгу було в 1,8 рази меншим порівняно до такого, яке реєструвалось у кіндлінгових щурів за відсутності лікування ( $p < 0,05$ ).

Застосування налоксону в дозі 10,0 мг/кг, в/очер. супроводжувалось зростанням числа пересічених центральних квадратів порівняно до такого у кіндлінгових щурів - на 70,0%, загального числа пересічених квадратів - в 2,3 рази ( $p < 0,05$ ). Також зростало число вертикальних сійок без опори - в 8,7 рази, число сійок з опорою - в 7,2 рази ( $p < 0,05$ ). Збільшувалось число зазірань тварин в отвори підлоги - в 3,7 рази ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

У групі щурів з використанням ЛВР (200,0 мг/кг, в/очер.) на тлі введення налоксону (10,0 мг/кг, в/очер.) досліджувані показники не відрізнялись від таких в групі контролю ( $p > 0,05$ ). При цьому величина більшості показників, за винятком числа епізодів грумінгу, уринацій та дефекацій достовірно перевищувало показники, які реєструвались у кіндлінгових щурів за відсутності лікування ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Приймаючи до уваги відносно незначну виразність змін у щурів за умов застосування ЛВР в низькій дозі (50,0 мг/кг), динаміку позо - тонічних реакцій у щурів вивчали при введенні препарату у вищій із досліджуваних доз (200,0 мг/кг, в/очер.) (табл. 2).

У щурів із сформованим кіндлінгом, на відміну від інтактних щурів, у 20% тварин кінцівки були розташовані під тулубом, спостерігалась експлозивність (20,0%), рефлекс прийняття вертикальної пози та рогівковий рефлекс були порушеними у 28,0% щурів (табл. 2). Крім того, у 32,0% тварин спостерігався екзофтальм, а у 68,0% при піднятті за хвіст задні кінцівки були приведені, в той час як у 55,0% щурів групи контролю кінцівки були відведені. У 76,0% кіндлінгових щурів спостерігався гіпертонус хвоста, зменшувалось число тварин, які утримувались на верхівці стрижня та захоплювали передніми

кінцівками олівець (відповідно до 48,0% і 44,0%). Позу "місток" утримувало 72,0% кіндлінгових щурів.

Під впливом ЛВР спостерігалось зменшення числа щурів, у яких кінцівки були розташовані під тулубом - до 6,7%, в той же час рогівковий рефлекс і рефлекс прийняття вертикальної пози були порушеними у 13,3%, а експлозивність реєструвалась у 20,0% щурів (табл. 2). У більшій частини щурів спостерігався екзофтальм (66,7%), а також реєструвався високий тонус хвоста (86,7%). Позу "місток" утримувало 86,7% щурів, а захват передніми кінцівками та утримання на стрижні демонструвало відповідно 40,0% та 46,7% тварин. При цьому виразність больових реакцій у щурів зменшувалась на 27,2% порівняно до показників у кіндлінгових щурів без лікування ( $p > 0,05$ ).

На тлі застосування налоксону (10,0 мг/кг, в/очер.) реєструвалось зменшення проявів симптому відведення кінцівок, що реєструвалось у 16,7% щурів (табл. 2). Крім того, у 8,3% щурів реєструвався екзофтальм, підвищувався показник виразності больових реакцій у відповідь на затискання хвоста корнцангом - в 2,45 рази порівняно до показника у кіндлінгових щурів ( $p < 0,05$ ). Високий тонус хвоста та здатність утримувати позу "місток" демонстрували відповідно 8,3% та 33,3% тварин. Введення ЛВР (200,0 мг/кг, в/очер.) на тлі застосування налоксону (10,0 мг/кг, в/очер.) не змінювало досліджувані показники позо-тонічних реакцій тварин порівняно до таких у групі контролю та порівняно до показників у групі кіндлінгових щурів, яким застосовували один тільки налоксон ( $p > 0,05$ ) (табл. 2).

Таким чином, отримані результати свідчать про блокування налоксоном впливу ЛВР на прояви кіндлінг - індукованих порушень рухової активності щурів, а саме, компонентів позо - тонічних реакцій. При цьому доза налоксону, яка була використана, є достатньо значною і в подібній дозі вплив препарату визначається блокуванням капта-опіатних рецепторів [Caldecott-Hazard, 1987].

Слід підкреслити, що активація ендогенної оплатної системи, як результат формування коразолового кіндлінга, визначалась у вигляді змін структури позо -

**Таблиця 2.** Вплив леветірацетама і налоксону на позо-тонічні реакції у кіндлінгових щурів (за Myslobodsky M. et al., 1981).

	Число щурів	Досліджувані показники										
		Положення передніх кінцівок	Рефлекс повертання	Експлозивність	Очні симптоми	Рогівковий рефлекс порушений	Положення задніх кінцівок при піднятті за хвіст	Тонус хвоста	Больовий рефлекс (бали)	Поза "місток"	Утримання на стрижні	Захват передніми кінцівками
Контроль (інтактні щури з введенням розчину NaCl)	20	Розставлені, n= 4	0	0	0	0	Відведені, 11	Не змінений, 20	2,2+ 0,1	18	20	19
Кіндлінг	25	Під тулубом, n=5	7	5	Екзофтальм, 8	7	Приведені, 17	Підвищений, 19	1,1+ 0,2*	18	12	11
Леветір ацетам (50,0 мг/кг, в/очер)	15	Під тулубом, n= 1	2	3	Екзофтальм, 10	2	Приведені, 7, відведені, 2	Підвищений, 13	0,8+0,2	13	6	7
Налоксон (10,0 мг/кг, в/очер)	12	Розставлені, 2, під тулубом, 2	0	2	Екзофтальм, 2	0	Відведені, 2	Підвищений, 1	2,7+ 0,2#	4	5	6
Налоксон (10,0 мг/кг) + леветірацетам (50,0 мг/кг)	12	Розставлені, 2, під тулубом, 3	1	1	Екзофтальм, 3	0	Приведені, 1	Підвищений, 1	2,3+ 0,2#	5	6	7

**Примітка:** \* -  $p < 0,05$  - порівняно до показників у групі контролю; # -  $p < 0,05$  щодо показників у групі щурів з коразоловим кіндлінгом (метод ANOVA+ Newman-Keuls тест).

тонічних реакцій, серед яких переважали симптоми опіатергічної природи. Так, у щурів спостерігалось виразне підвищення порогу больової чутливості в тесті прищиплення хвоста корнцангом, розвиток екзофтальма, експлозивності, характерне приведення кінцівок, зміни тонуусу окремих груп м'язів. Вказані зміни блокувались під впливом налоксону, який застосовували в дозі 10,0 мг/кг, що свідчить про патогенетичну роль активації каппа-опіатних рецепторів у їх формуванні.

Отримані результати свідчать про те, що ЛВР не викликає суттєвого впливу на поведінку щурів в тесті відкритого поля, окремі прояви якого також можуть бути детермінованими високим тонусом ендogenous опіатної системи [Шандра, 1999]. Більше того, число епізодів грумінгу, які мали тенденцію до зниження у кіндлінгових щурів, досягало рівня достовірних відмінностей на тлі застосування ЛВР. У той же час, у відношенні до позо-тонічних поведінкових компонентів дія ЛВР носила чіткий блокуючий опіатергічні прояви характер. Подібні відмінності можуть бути обумовлені як участю

різних типів рецепторів опіатергічної системи у формуванні поведінкових реакцій, так і особливостями впливів ЛВР, який може забезпечувати ефекти в тому числі шляхом модуляції системи прозапальних цитокінів [Navarro, 2013].

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Формування коразолового кіндлінгу пов'язане з активацією поведінкових реакцій, в основі розвитку яких є підвищення тонуусу ендogenous опіатергічної системи.

2. ЛВР в тесті позо - тонічних реакцій у кіндлінгових тварин викликає зниження виразності опіатергічних компонентів і цей ефект блокується застосуванням налоксону в дозі 10,0 мг/кг, в/очер.

У подальшому передбачається дослідження можливості корекції поведінкових порушень у пацієнтів, які страждають на епілепсію шляхом застосування ЛВР у поєднанні з модуляцією функціонального стану ендogenous опіатергічної системи.

### Список літератури

- Годлевський Л. С. Нейроімуннологічні механізми контролю збудливості головного мозку / Л. С. Годлевський, О. М. Нєнова // Досягнення біології та медицини. - 2006. - № 1. - С. 75 - 92.
- Шандра А. А. Кіндлінг как модель епилептической активности / Шандра А. А., Годлевский Л. С., Брусенцов А. И. - Одесса : Астропринт, 1999. - 276 с.
- Analgesic activity of piracetam: effect on cytokine production and oxidative stress / S. A. Navarro, K. G. Serafim, S. S. Mizokami [et al.] // Pharmacol. Biochem. Behav. - 2013. - Vol. 105. - P. 183 - 192.
- Caldecott-Hazard S. Limbic postictal events: anatomical substrate and opioid receptors involvement / S. Caldecott-Hazard, J. Engel // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. - 1987. - Vol. 11. - P. 389 - 418.
- Myslobodsky M. Convulsive-specific architecture of the postictal behavioral syndrome in the rat / M. Myslobodsky, O. Kofman, M. Mintz // Epilepsia. - 1981. - Vol. 27, № 5. - P. 559 - 568.
- Neurocognitive effects of brivaracetam, levetiracetam, and lorazepam / K. J. Meador, A. Gevins, P. T. Leese [et al.] // Epilepsia. - 2011. - Vol. 52, № 2. - P. 264 - 272.
- Tomich M. A. Levetiracetam interacts synergistically with nonsteroidal analgesics and caffeine to produce antihyperalgesia in rats/ M. A. Tomich, A. M. Micov, R. M. Stepanovic-Petrovic // The Journal of Pain. - 2013. - Vol. 14, № 1. - P. 1371 - 1382.

**Муратова Т.Н., Годован В.В., Полясний В.А.**

**ОПИАТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ ЛЕВЕТИРАЦЕТАМА НА СПОНТАННУЮ И ВЫЗВАННУЮ ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ У КИНДЛИНГОВЫХ КРЫС**

**Резюме.** У крыс линии Вистар моделировали киндлинговый синдром с помощью в/бр. применения коразола в подпорого-

вой дозе (25,0 мг/кг, в/бр) на протяжении трех недель. Через 24 ч. с момента его создания в открытом поле наблюдалось снижение исследуемых показателей двигательной активности, которое блокировалось применением налоксона (10,0 мг/кг, в/бр). Леветирацетам (200,0 мг/кг, в/бр) снижал число эпизодов груминга у киндлинговых крыс и этот эффект устранялся на фоне применения налоксона. Позно-тонические реакции у киндлинговых крыс характеризовались превалированием опиоид-детерминированных проявлений и под влиянием леветирацетама наблюдалось увеличение числа крыс с экзофтальмом (до 66,7%), высоким тонусом хвоста и способность. Удерживать позу "мостик" (до 86,7%). Эти эффекты леветирацетама блокировались налоксоном (10,0 мг/кг, в/бр).

**Ключевые слова:** химический киндлинг, леветирацетам, поведение крыс.

**Muratova T.N., Godovan V.V., Polyasny V.A.**

#### OPIATE MECHANISMS OF LEVETIRACTEAM ACTION UPON SPONTANEOUS AND INDUCED LOCOMOTOR ACTIVITY OF KINDLED RATS

**Summary.** The kindling syndrome have been induced in Wistar rats via subthreshold dosage of corazol (25,0 mg/kg, i.p.) administration during three weeks. In 24 h. from the moment of kindling induction the net reduction of locomotor activity was observed in open field test, which was blocked by naloxone (10,0 mg/kg, i.p.). Levetiracetam (200,0 mg/kg, i.p.) decreased the number of grooming episodes in kindled rats and this effect was abolished by naloxone. Postural and tonic behavioral reactions in kindled rats were characterized by the prevalence of opioid - determined manifestations and levetiracetam induced the increase of number of rats with exophthalm (up to 66,7%), the number of rats with high tail tonus and such one who were able to keep "bridge" position (up to 86,7%). Mentioned effects induced by levetiracetam were blocked by naloxone (10,0 mg/kg, i.p.).

**Key words:** chemical kindling, levetiracetam, rat's behavior.

Стаття надійшла до редакції 06.05.2014 р.

Муратова Тетяна Миколаївна - к. мед. н., доцент кафедри нейрохірургії і неврології Одеського національного медичного університету; godlevsky@odmu.edu.ua

Годован Владлена Володимирівна - д. мед. н., професор кафедри загальної та клінічної фармакології Одеського національного медичного університету; +38 050 358-92-36; godovan@mail.ru

Полясний Вячеслав Олексійович - к. мед. н., доцент кафедри соціальної медицини, медичного права і менеджменту Одеського національного медичного університету

© Мельник А.В., Заїчко Н.В., Паламарчук І.В.

УДК: 546.221.1:599.323.4:611.13

**Мельник А.В., Заїчко Н.В., Паламарчук І.В.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра біологічної та загальної хімії (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

## ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА ТОНУС АОРТИ ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП

**Резюме.** Вивчено вплив модуляторів обміну гідроген сульфід (H<sub>2</sub>S) - NaHS та пропаргілгліцину на стан аорти щурів трьох вікових груп - статевонезрілих (1 - 2 міс.), дорослих (6 - 8 міс.) та старих (24 - 26 міс.). Двотижневе введення пропаргілгліцину викликає зниження (на 40 - 60%) активності H<sub>2</sub>S-синтезуючих ензимів та вмісту H<sub>2</sub>S в аорті, в той час як введення NaHS підвищує ці показники. У старих та дорослих щурів під впливом пропаргілгліцину істотно підвищується вміст маркера ендотеліальної дисфункції sVCAM в сироватці крові. Пропаргілгліцин знижує чутливість аорти старих і, меншою мірою, дорослих щурів до вазодилатуючої дії H<sub>2</sub>S (в концентраціях 10<sup>-6</sup> - 10<sup>-3</sup> М), а введення NaHS, навпаки, сприяє її підвищенню. Введення модуляторів обміну H<sub>2</sub>S суттєво не впливає на функціональний стан аорти у статевонезрілих щурів.

**Ключові слова:** гідроген сульфід, пропаргілгліцин, аорта, вік.

### Вступ

Одним із механізмів кардіоваскулярного старіння є пригнічення судинної продукції вазодилататорів (ацетилхоліну, нітроген монооксиду) та посилення продукції вазоконстрикторів (ендотеліну-1, ангіотензину) [Кульчицкий, 2005; Taddei et al., 2003]. В останні роки було встановлено, що важливу роль в регуляції судинного тонуусу відіграє гідроген сульфід (H<sub>2</sub>S) - метаболіт сірковмісних амінокислот, газотрансмітер, цитопротектор та антиоксидант [Kimura, 2011]. Доведено, що донори H<sub>2</sub>S зменшують пошкодження органів (міокарду, мозку, нирок) при експериментальній ішемії-реперфузії, оксидативному стресі, запаленні, а інгібітори H<sub>2</sub>S-синтезуючих ензимів, навпаки, проявляють адитивний

ефект [Lowicka, Beltowski, 2007; Kimura, 2011]. Раніше нами було показано, що в процесі старіння відбувається зниження активності H<sub>2</sub>S-синтезуючих ензимів в аорті щурів [Ольховский та ін., 2011], однак, вікові особливості впливу модуляторів обміну H<sub>2</sub>S на стан судин залишаються не визначеними. Метою роботи було встановлення впливу донору H<sub>2</sub>S - натрій гідросульфід та інгібітору синтезу H<sub>2</sub>S - пропаргілгліцину на біохімічні та функціональні показники стану аорти щурів різних вікових груп.

### Матеріали та методи

Досліди проведені на 90 білих нелінійних щурах-