

УДК 612.017.1: 612.8.062; 612.821.7+616.853
DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495358>

ВПЛИВ БЛОКАТОРІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ НА ВИРАЖЕНІСТЬ ГОСТРИХ ГЕНЕРАЛІЗОВАНИХ СУДОМ

Вастьянов Р.С.

Одеський національний медичний університет, rvastyanov@gmail.com

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ОСТРЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ СУДОРОГ

Вастьянов Р.С.

Одесский национальный медицинский университет, rvastyanov@gmail.com

CALCIUM CHANNEL BLOCKERS INFLUENCE ON ACUTE GENERALIZED CONVULSIONS

Vastyanov R.S.

Odessa National Medical University, rvastyanov@gmail.com

Summary/Резюме

The important role of calcium ions in epileptic activity generation and excessive spread is known. The calcium ions release through L-type channels block aimed to brain excitability reduction. Intracellular calcium concentration is well known to decrease during convulsions. Therefore, it is interesting to investigate the convulsions modulation in conditions of calcium channels pharmacological blockade. The purpose of this work is to study the calcium channel blockade influence on the severity of acute generalized seizures induced by convulsants with different mechanisms of convulsive action. The anticonvulsant effect of calcium channel blockers nimotop and rhyodipine was established in acute generalized convulsions induced by pentylenetetrazole, picrotoxin, strychnine, pilocarpine and kainic acid. The anticonvulsant efficacy of nimotop and rhyodipine dose-dependent nature was shown which was characterized by first convulsive manifestations latency prolongation as well as a decrease in the average intensity of convulsive reactions and the number of animals with clonic-tonic convulsive seizures. The anticonvulsant efficacy of nimotop and rhyodipine maximal expression was also shown in conditions of acute generalized pentylenetetrazole- and picrotoxin-induced convulsive reactions which indicate GABA_B-benzodiazepine-ionophore receptor complex involvement into their antiepileptic mechanisms realization. The data obtained are an experimental background for reasonability of researches continuation to reveal the features of probable calcium channel block anticonvulsant activity in conditions of chronic convulsive syndrome relevant to the clinical manifestation of epilepsy which will increase the experimental evidence base for the calcium channel block efficacy for epileptic activity suppression.

Key words: *nimotop, riodipine, acute generalized convulsions, pentylenetetrazole, picrotoxin, calcium channels, pharmacological blockade*

Известна важная роль ионов кальция в генерации и чрезмерном распространении эпилептической активности. Блокада выхода ионов кальция по каналам L-

типа направлена на снижение возбудимости головного мозга. Известно, что во время судорожных проявлений снижается концентрация внутриклеточного кальция. Поэтому интересным представляется исследование модуляции судорожных проявлений при фармакологической блокаде кальциевых каналов. Цель работы — исследование влияния блокады кальциевых каналов на выраженность острых генерализованных судорог, индуцированных конвульсантами с различными механизмами реализации судорожного действия. Установлено противосудорожное действие блокаторов кальциевых каналов нимотопа и риодипина в условиях острых генерализованных судорог, индуцированных пентилентетразолом, пикротоксином, стрихнином, пилокарпином и каиновой кислотой. Показан зависимый от дозы характер противосудорожной эффективности нимотопа и риодипина, что проявлялось удлинением латентного периода первых судорожных проявлений, а также снижением средней интенсивности судорожных реакций и числа животных с клонико-тоническими судорожными припадками. Показана также максимальная выраженность противосудорожного действия нимотопа и риодипина в условиях острых генерализованных пентилентетразол- и пикротоксин-вызванных судорожных реакций, что свидетельствует о вовлечении модуляции активности ГАМК_B-бензодиазепин-ионофорного рецепторного комплекса в механизмы реализации ими антиэпилептического эффекта. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием целесообразности продолжения исследований и выяснения особенностей вероятной противосудорожной активности блокады кальциевых каналов на модели хронического судорожного синдрома, релевантного клинической манифестации эпилепсии, что повысит экспериментальную доказательную базу эффективности блокады кальциевых каналов с целью подавления эпилептической активности.

Ключевые слова: нимотоп, риодипин, острые генерализованные судороги, пентилентетразол, пикротоксин, кальциевые каналы, фармакологическая блокада

Відомою є важлива роль іонів кальцію в генерації та надмірному розповсюдженні епілептичної активності. Блокада виходу іонів кальцію по каналам L-типу спрямована на зниження збудливості головного мозку. Відомо, що упродовж судомних проявів відбувається зниження концентрації внутрішньоклітинного кальцію. Тому цікавим є дослідження модуляції судомних проявів при фармакологічній блокаді кальциєвих каналів. Мета роботи — дослідження впливу блокади кальциєвих каналів на вираженість гострих генералізованих судом, індукованих конвульсантами з різними механізмами реалізації судомної активності. Встановлено протисудомну дію блокаторів кальциєвих каналів німотопу та ріодипіну за умов гострих генералізованих судом, індукованих пентилентетразолом, пікротоксином, стрихніном, пілокарпіном та каїноюю кислотою. Показано залежний від дози характер протисудомної ефективності німотопу та ріодипіну, яка проявлялася збільшенням латентного періоду перших судомних проявів, а також зменшенням середньої інтенсивності судомних реакцій та числа тварин з клоніко-тонічними судомними нападами. Показано також максимальну вираженість протисудомної дії німотопу та ріодипіну в умовах гострих генералізованих пентилентетразол- та пікротоксин-спричинених судомних реакцій, що свідчить про залучення до механізмів реалізації ними антиепілептичного ефекту модуляції активності ГАМК_B-бензодіазепін-іонофорного рецепторного комплексу. Отримані дані є експериментальним обґрунтуванням доцільності про-

довження досліджень та з'ясування особливостей ймовірної протисудомної активності блокади кальцієвих каналів на моделі хронічного судомного синдрому, релевантного клінічній маніфестації епілепсії, що підвищить експериментальну доказову базу ефективності блокади кальцієвих каналів з метою пригнічення епілептичної активності.

Ключові слова: німотоп, ріодипін, гострі генералізовані судоми, пентиленететразол, пікротоксин, кальцієві канали, фармакологічна блокада

Вступ

Відомою є важлива роль іонів кальцію та, відповідно, модуляції функціональної активності кальцієвих каналів в розвитку епілептичної активності (ЕпА) [5, 9, 20]. Блокада виходу Ca^{2+} по каналам L-типу спрямована на зниження збудливості головного мозку в цілому [15, 20]. Відомо, що упродовж маніфестації судомних проявів відбувається зниження концентрації внутрішньоклітинного кальцію [18]. Встановлена провідна роль активації вольт-залежних кальцієвих каналів в генерації та розповсюдженні ЕпА [4, 9, 14, 17, 19].

Простежено підвищення щільності Ca^{2+} струму в гіпокампі під час епілептогенезу [10], в той же час блокада цих каналів органічними антагоністами кальцієвих каналів спричинятиме ЕпА [16]. При хронічній формі ЕпА в синаптосомах мозку суттєво зростає концентрація кальцію, що розглядається в якості патофізіологічного механізму формування підвищеної судомної готовності тварин при фармакологічному кіндлінзі. Стійке накопичення вільного кальцію в синаптосомах мозку, скоріше за все, пов'язане з пластичними перебудовами нервової тканини, що виникають при хронічному впливі субконвульсивних доз епілептогенів [11].

Будучи вторинним внутрішньоклітинним месенджером, іони кальцію беруть участь у здійсненні найважливіших внутрішньоклітинних процесів, у тому числі і синтез структурних і функціональних білків, вносячи тим самим свій внесок у здійснення патологічних пластичних процесів, що лежать в основі хронічного епілептогенезу [21].

ічного епілептогенезу [21].

За наявності багатьох даних, в тому числі й електронейрофізіологічних, багато чого ще залишається невідомим з точки зору ретельного дослідження внеску кальцієвих іонів в генерацію та підтримання надмірного збудження нервової системи при ЕпА, але в коло наших інтересів увійшли намагання дослідити можливість модуляції судомних проявів при фармакологічній блокаді кальцієвих каналів. При цьому ми виходимо з того, що блокада вольт-залежних кальцієвих каналів суттєво редукує кількість гіперактивних нейронів, які становлять активний ресурс генератора патологічно посиленого збудження, який, у свою чергу, є тим самим ендogenous підґрунтям, що детермінує формування ЕпА [7]. При цьому доречно згадати, що іони кальцію регулюють принаймні 3 важливі функції клітини: скорочення, енергопостачання та реактивність. Розрізняють 2 основних механізми надходження кальцію в клітину — електро- та хемозбудливий, — виходячи з чого кальцієві канали класифікуються як потенціал-залежні (швидкі та повільні) та хемочутливі [13].

Наші припущення базуються на відомих фундаментальних поняттях про роль іонів кальцію та вольт-залежних кальцієвих каналів в модуляції процесів збудливості нейронів [13], на показаних протисудомних ефектах ріодипіну та глутапірону при експериментальній судомній активності [5, 6], а також на проєктивних ефектах німотопу та ріодипіну за умов каїнат-спричиненого епілептичного статусу [3].

Метою дослідження є дослідження впливу блокади кальцієвих каналів на вираженість гострих генералізованих судом, індукованих конвульсантами з різними механізмами реалізації судомної активності.

Матеріали і методи дослідження

Робота з експериментальними тваринами провадилася у відповідності до вимог, викладених у вітчизняних та міжнародних рекомендаціях, нормах і вимогах 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). Роботу з лабораторними тваринами проводили, дотримуючись норм проведення дослідів, прийнятих комісією з етики проведення експериментальних досліджень ОНМедУ, та правил, що передбачені Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних та інших дослідів з участю експериментальних тварин різних видів. Експериментальні дослідження проводилися за умов хронічного експерименту на 255 щурах-самцях лінії Вістар статевозрілого віку масою від 180 до 250 г. З метою приручення тварин і відсутності у них стресової реакції у відповідь на взяття їх корнцангом, щурів перед початком експерименту тримали в руках по 2-3 хв. протягом 5 днів, що полегшувало подальші експериментальні дослідження з тваринами [1].

Для індукції генералізованих судом внутрішньоочеревинно (в/очер) вводили пентилентетразол (40 мг/кг), пікротоксин (2,0 мг/кг), стрихніну нітрат (1,0 мг/кг), пілокарпіну гідрохлорид (280 мг/кг) та каїнову кислоту (15 мг/кг; всі застосовані конвульсанти виробництва "Sigma-Aldrich", Німеччина). Тваринам контрольних груп за цих умов вводили аналогічні об'єми 0.9 % фізіологічного розчину NaCl. Німотоп ("Bayer Schering Pharma AG", Німеччина) дозами 0.5 мг/

кг, 1,0 мг/кг та 2,0 мг/кг та ріодипін (ЗАО ННПЦ «Борщаговський», Україна) дозами 0.5 мг/кг, 1,0 мг/кг та 2,0 мг/кг вводили в/очер за 15 хв до введення конвульсантів.

Після ін'єкції конвульсантів щурів поміщали в індивідуальні прозорі пластмасові камери (10 см x 25 см x 30 см) і спостерігали в середньому протягом 30 хв. Судоми визначали візуально й оцінювали за загальноприйнятою 6-бальною шкалою [2]. У кожній дослідній групі було по 7 тварин, у контрольних групах нараховували по 9 щурів.

Отримані результати обробляли статистично із застосуванням параметричного критерію одноваріантної АНО-ВИ, який супроводжувався пост-хок тестом Ньюман-Кулльза. При обчислюванні ординальних значень застосовували непараметричний критерій Крушквал-Валліса. $p < 0.05$ вважали мінімальною статистичною вірогідністю.

Результати дослідження та їх обговорення

Латентний період перших гострих генералізованих пентилентетразоліндукованих судомних реакцій у тварин контрольної групи становив $0,72 \pm 0,14$ хв (табл. 1). У 7 щурів із 9 розвивалися генералізовані судомні напади, причому в 1 тварини судомні напади відзначалися повторно.

Німотоп дозою 0,5 мг/кг викликав збільшення латентного періоду перших судом на 87 %, що суттєво відрізнялося порівняно з аналогічними контрольними даними ($P < 0,05$). В цих умовах генералізовані судомні прояви реєструвалися в 5 щурів із 7, що не відрізнялося від таких показників в контролі. Перші пентилентетразолові судоми після введення німотопу (1.0 мг/кг) реєструвалися в середньому в 2.6 разів пізніше, ніж такий самий контрольний показник ($p < 0.01$). При цьому середня інтенсивність судом також була менше, ніж в контрольних

Вплив блокувальних кальцієвих каналів на вираженість гострих генералізованих пентилентетразол-індукованих судом

Групи щурів, кількість тварин	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судомних реакцій, M ± m, хв.
	0	1	2	3	4	5		
Контроль (інтактні щури), n = 9	0	0	0	2	6	1	-	0,7 ± 0,1
Німотоп (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	2	5	0	> 0,05	1,3 ± 0,2*
Німотоп (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	0	5	2#	0	< 0,05	1,8 ± 0,2**
Німотоп (2,0 мг/кг), n = 7	0	1	3	3	0#	0	< 0,01	5,1 ± 0,4***
Ріодипін, (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	2	4	1	> 0,05	0,9 ± 0,1
Ріодипін, (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	1	3	3	0	> 0,05	2,3 ± 0,3**
Ріодипін, (2,0 мг/кг), n = 7	0	2	3	2	0#	0	< 0,05	3,2 ± 0,4***

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крускал-Валліс.

* — P < 0,05, ** — P < 0,01, *** — P < 0,001 — вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольній групі щурів (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

— P < 0,05 — вірогідні розбіжності числа щурів з генералізованими клоніко-тонічними нападами порівняно з такими показниками в контрольній групі (статистичний критерій Крускал-Валліс).

спостереженнях (p < 0.05). Аналогічний характер протисудомної активності, який виражався у суттєвому (в 7.3 рази, p < 0.001) подовженні латентного періоду перших судомних проявів та зменшенні інтенсивності пентилентетразол-індукованих судом (p < 0.01), відзначався після введення німотопу максимальною дозою. За таких умов в щурів були відсутні генералізовані клоніко-тонічні напади, що відзначалося в 66.7 % щурів контрольної групи (p < 0.05).

Перші пентилентетразол-прово-

ковані гострі генералізовані судоми у щурів після введення їм ріодипіну дозою 1.0 мг/кг розвинулися в середньому через 2,3 ± 0,3 хв, що виявилось в 3.3 більше порівняно з аналогічним показником в контрольних серіях спостережень (p < 0.01). Середня інтенсивність гострих судомних реакцій за таких умов була співставною з

таким показником у щурів після введення мінімальної дози ріодипіну та не відрізнялася суттєво від аналогічного контрольного показника (p > 0.05). Латентний період перших пентилентетразол-індукованих гострих генералізованих судом після введення щурам максимальної дози ріодипіну був в 4.6 разів більше ніж такий самий контрольний показник (p < 0.001). Інтенсивність судомних реакцій в цій групі щурів була значно менше, генералізовані клоніко-тонічні напади були відсутні, що значно відрізнялося від таких самих показників в контрольній серії

спостережень (в обох випадках p < 0.05).

Вплив блокувальних кальцієвих каналів на вираженість гострих генералізованих пікротоксин-індукованих судом

Групи щурів, кількість тварин	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судомних реакцій, M ± m, хвил
	0	1	2	3	4	5		
Контроль (інтактні щури), n = 9	0	0	0	1	6	2	-	14,7 ± 2,2
Німотоп (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	2	4	1	> 0,05	16,1 ± 2,3
Німотоп (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	1	3	3	0	> 0,05	21,3 ± 2,2*
Німотоп (2,0 мг/кг), n = 7	0	0	2	5	0#	0	< 0,05	24,6 ± 2,3**
Ріодипін, (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	1	5	1	> 0,05	15,6 ± 1,8
Ріодипін, (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	0	4	2	1	> 0,05	18,1 ± 2,0
Ріодипін, (2,0 мг/кг), n = 7	0	2	2	3	0#	0	< 0,05	22,7 ± 2,2*

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крускал-Валліс.

* — P < 0,05, ** — P < 0,01 — вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольній групі щурів (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

— P < 0,05 — вірогідні розбіжності числа щурів з генералізованими клоніко-тонічними нападами порівняно з такими показниками в контрольній групі (статистичний критерій Крускал-Валліс).

В контрольній групі щурів перші гострі генералізовані пікротоксин-викликані судоми виникали в середньому через 14.7 ± 2.2 хв та характеризувалися наявністю у 8 тварин із 9 генералізованих клоніко-тонічних нападів, в тому числі й повторних (табл. 2).

Таблиця 3

Вплив блокаторів кальцієвих каналів на вираженість гострих генералізованих стрихнін-індукованих судом

Групи щурів, кількість тварин	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судомних реакцій, M ± m, хвил
	0	1	2	3	4	5		
Контроль (інтактні щури), n = 9	0	0	0	2	5	2	-	3,9 ± 0,4
Німотоп (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	3	2	2	> 0,05	4,6 ± 0,5
Німотоп (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	3	2	2	0	< 0,05	6,3 ± 0,5*
Німотоп (2,0 мг/кг), n = 7	0	1	3	3	0#	0	< 0,05	7,7 ± 0,6**
Ріодипін, (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	2	5	0	> 0,05	4,2 ± 0,4
Ріодипін, (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	1	3	3	0	> 0,05	4,7 ± 0,4
Ріодипін, (2,0 мг/кг), n = 7	0	1	2	2	2	0	< 0,05	6,6 ± 0,5*

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс.

* — P < 0,05, ** — P < 0,01 — вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольній групі щурів (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

— P < 0,05 — вірогідні розбіжності числа щурів з генералізованими клоніко-тонічними нападами порівняно з такими показниками в контрольній групі (статистичний критерій Крушквал-Валліс).

Німотоп, починаючи з дози 1,0 мг/кг, сприяв суттєвому збільшенню латентного періоду перших гострих генералізованих судомних реакцій (p < 0,05). Проте, лише при його застосуванні дозою 2,0 мг/кг судомні реакції тварин реєструвалися у вигляді клонічних скорочень передніх кінцівок та всього тулубу, клоніко-тонічні напади не спостерігалися (p < 0,05). Середня інтенсивність судом за таких умов була значно менше, ніж аналогічний показник у контрольних щурів (p < 0,05).

Лише максимальна доза ріодипіну була ефективною за умов пікротоксинспричинених судом був більше на 54.4 %, в жодного щура не реєструвалося генералізованих клоніко-тонічних нападів, а середня інтенсивність судомних реакцій була меншою при порівнянні з відповідними контрольними показниками (p < 0,05).

При дослідженні впливу блокаторів кальцієвих каналів на вираженість гострих генералізованих стрихнін-індукованих судом з'ясувалося, що латентний період таких судом після введення німотопу (1,0) мг/кг на 75 % перевищував такий самий контрольний показник (p < 0.05; табл. 3).

При цьому середня інтенсивність стрихнін-індукованих гострих генералізованих судом була менше, ніж в контролі (p < 0.05). Аналогічний характер протисудомної активності, який виражався у дворазовому (p < 0.01) подовженні латентного періоду перших судомних проявів та зменшенні інтенсивності стрихнін-індукованих судом (p < 0.05), відзначався після введення німо-

топу максимальною дозою. За таких умов в щурів були відсутні генералізовані клоніко-тонічні напади, що відзначалося в 7 із 9 щурів контрольної групи (p < 0,05).

За умов індукції гострих генералізованих судом стрихніном ефективною в плані їх пригнічення виявилася лише максимальна доза ріодипіну. Латентний період таких судом був на 69 % більше, а середня інтенсивність судом була менше при порівнянні з аналогічними показниками в контрольній групі щурів (в обох випадках p < 0,05).

Латентний період перших пілокарпін-індукованих судомних реакцій у тварин контрольної групи дорівнював 15,2 ± 1,5 хв (табл. 4). У 8 щурів із 9 розвивалися генералізовані судомні напади.

За умов індукції гострих генералізованих судом пілокарпіном ефективною в плані певного їх пригнічення виявилася лише максимальна доза німотопу. Тільки латентний період подібних судом був на 57 % більше (p < 0,05), а середня інтенсивність судом була співставною з таким самим показником в контрольній групі щурів (p > 0,05).

Подібним чином ми виявили ефек-

Вплив блокаторів кальцієвих каналів на вираженість гострих генералізованих пілокарпін-індукованих судом

Групи щурів, кількість тварин	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судомних реакцій, M ± m, хвил
	0	1	2	3	4	5		
Контроль (інтактні щури), n = 9	0	0	0	1	8	0	-	15,2 ± 1,5
Німотоп (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	3	4	0	> 0,05	14,9 ± 1,5
Німотоп (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	0	4	3	0	> 0,05	15,7 ± 1,6
Німотоп (2,0 мг/кг), n = 7	0	0	0	5	2	0	> 0,05	23,8 ± 2,1*
Ріодипін, (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	1	6	0	> 0,05	15,6 ± 1,5
Ріодипін, (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	1	3	3	0	> 0,05	13,9 ± 1,5
Ріодипін, (2,0 мг/кг), n = 7	0	1	3	2	1#	0	< 0,05	25,7 ± 2,4*

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс.

* — P < 0,05 — вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольній групі щурів (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

— P < 0,05 — вірогідні розбіжності числа щурів з генералізованими клоніко-тонічними нападами порівняно з такими показниками в контрольній групі (статистичний критерій Крушквал-Валліс).

тивність лише максимальної дози ріодипіну при відтворенні у щурів гострих генералізованих пілокарпін-індукованих судом. За таких умов латентний період перших судом був на 69 % більше, ніж в контролі, а середня інтенсивність судом і кількість щурів з генералізованими клоніко-тонічними нападами були суттєво менше відповідних показників у щурів контрольної групи (в обох випадках p < 0,05).

Латентний період перших гострих генералізованих каїнат-індукованих судомних реакцій у тварин контрольної гру-

Таблиця 4

пи становив $7,9 \pm 0,5$ хв (табл. 5). У 100 % щурів розвивалися генералізовані судомні напади, причому в 4 тварин генералізовані судомні напади виникали повторно.

Німотоп дозою 0,5 мг/кг та 1,0 мг/кг не змінював суттєво вираженість, характер та латентний період гострих генералізованих судом, ініційованих введенням каїнової кислоти.

Перші каїнат-спричинені судомні після введення німотопу (2,0 мг/кг) реєструвалися в середньому в 2 рази пізніше, ніж такий самий контрольний показник (p < 0,05). При цьому середня інтенсивність судом також була менше, ніж в контрольних спостереженнях (p < 0,05). Аналогічний характер протисудомної активності, який виражався у суттєвому (на 82 %) подовженні латентного періоду перших судомних проявів та зменшенні інтенсивності каїнат-індукованих судом, відзначався після введення ріодипіну максимальною дозою. За таких умов лише в 1 щура

Таблиця 5

Вплив блокаторів кальцієвих каналів на вираженість гострих генералізованих каїнат-індукованих судом

Групи щурів, кількість тварин	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судомних реакцій, M ± m, хвил
	0	1	2	3	4	5		
Контроль (інтактні щури), n = 9	0	0	0	0	5	4	-	7,9 ± 0,5
Німотоп (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	0	4	3	> 0,05	7,8 ± 0,6
Німотоп (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	0	2	4	1	> 0,05	9,3 ± 0,8
Німотоп (2,0 мг/кг), n = 7	0	0	0	5	2	0	< 0,05	15,7 ± 1,4*
Ріодипін, (0,5 мг/кг), n = 7	0	0	0	0	5	2	> 0,05	8,4 ± 0,8
Ріодипін, (1,0 мг/кг), n = 7	0	0	0	2	5	0	> 0,05	8,9 ± 0,8
Ріодипін, (2,0 мг/кг), n = 7	0	0	4	2	1#	0	< 0,05	14,4 ± 1,4*

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс.

* — P < 0,05 — вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольній групі щурів (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

— P < 0,05 — вірогідні розбіжності числа щурів з генералізованими клоніко-тонічними нападами порівняно з такими показниками в контрольній групі (статистичний критерій Крушквал-Валліс).

було зареєстровано генералізований клоніко-тонічний напад, що суттєво відрізняється від такого показника, який реєстрували в контрольних спостереженнях (в усіх випадках p < 0,05).

Таким чином, отримані дані виявили принципову можливість пригнічення гострих генералізованих судом, індуко-

ваних конвульсантами з різними механізмами судомної дії, при блокаді вольт-залежних кальцієвих каналів. Подібний характер отриманих результатів підтверджує так звану «кальцієву гіпотезу» формування ЕпА та висвітлює принципову перспективну можливість реалізації протисудомних ефектів за умов блокади входу іонів кальцію до клітини. Ці дані співвідносяться з даними окремих нейрофізіологічних досліджень, в яких автори довели пряму залежність епілептиформних внутрішньоклітинних розрядів від входу іонів кальцію до клітини [10, 14-16].

Дійсно, згідно фундаментальних уявлень, стійка деполяризація мембрани, які відбувається при ініціації судом, активує вольт-залежні кальцієві канали та ініціює активність в такий спосіб самопідтримуючогося механізму надмірного розповсюдження ЕпА по нервовій системі. Зрозуміло, що в разі фармакологічної блокади та/або модуляції активності кальцієвих каналів можливо значним чином зменшити процес збудження мембрани нейронів та зменшити амплітуду та частоту генерації судомних потенціалів.

Наші результати виявили протисудомний спектр активності німотопу та рідипіну — блокаторів кальцієвих каналів другого покоління [8]. Цікавими та обнадійливими є протисудомні ефекти цих двох препаратів за умов гострих генералізованих судом, спричинених в разі компрометації ГАМК_B-бензодіазепін-іонофорного рецепторного комплексу (в разі застосування пентилентетразолу та пікротоксину), а також залучення до патогенетичних механізмів епілептогенезу гліцин- (в разі застосування стрихніну), холін- (в разі застосування пілокарпіну) та системи збуджувачих амінокислоти (в разі застосуванні каїнової кислоти) [12]. Відзначимо при цьому, що протисудомна ефективність була виражена у скороченні латентного

періоду перших судомних проявів, зменшенні середньої інтенсивності судомних реакцій та редукції числа щурів з генералізованими клоніко-тонічними нападами. Важливо також й те, що в разі пілокарпін- та каїнат-індукованих судом протисудомна активність застосованих блокаторів кальцієвих каналів була реалізована в разі їх введення максимальною дозою, що важливо з точки зору титрування індивідуальних доз при їх ймовірному сумісному введенні з іншими протисудомними сполуками в разі тестування ефективності патогенетично обґрунтованої схеми фармакологічної корекції ЕпА.

При всіх інших позитивних результатах наведених експериментальних досліджень вважаємо доцільним зауважити, що вказані нами результати не можна вважати абсолютним експериментальним підґрунтям для доцільності тестування клінічних протисудомних ефектів блокади кальцієвих каналів, оскільки за умов гострої генералізованої судомної активності не відтворюються всі особливості епілептогенезу, який характерний для біологічного організму. Показана раніше антиепілептична дія німотопу та рідипіну за умов каїнат-індукованого епілептичного статусу є одним із перших етапів доведення ефективності блокади кальцієвих каналів при хронічній формі епілепсії в експерименті [3]. З урахуванням цього, вважаємо доцільним продовження цього блоку досліджень та з'ясування особливостей ймовірної протисудомної активності блокади кальцієвих каналів на моделі хронічного судомного синдрому, релевантного клінічній маніфестації епілепсії, — фармакологічного кіндлінгу. Ймовірно при подальших наукових дослідженнях може бути комбінація блокаторів кальцієвих каналів з протисудомними препаратами при хронічній формі судомного синдрому, яка є резистентною щодо антиепілептичного лікування, що

також підвищить експериментальну доказову базу доведення ефективності блокади кальцієвих каналів з метою пригнічення ЕпА.

Висновки:

1. Блокатори кальцієвих каналів німотоп та ріодипін виявляють протисудомну дію за умов гострих генералізованих судом, індукованих конвульсантами з різними механізмами реалізації конвульсивної дії — пентиленететразолом, пікротоксином, стрихніном, пілокарпіном та каїновою кислотою.
2. Протисудомна дія німотопу та ріодипіну мала залежний від дози характер та проявлялася збільшенням латентного періоду перших судомних проявів, а також зменшенням середньої інтенсивності судомних реакцій та числа тварин з клоніко-тонічними судомними нападами.
3. Протисудомна дія німотопу та ріодипіну була максимально виражена в умовах гострих генералізованих пентиленететразол- та пікротоксин-спричинених судомних реакцій, що свідчить про залучення до механізмів реалізації ними антиепілептичного ефекту модуляції активності ГАМК_B-бензодіазепін-іоноформного рецепторного комплексу.
4. Наявність протисудомної ефективності в разі введення максимальних доз німотопу та ріодипіну за умов стрихнін-, пілокарпін- та каїнат-індукованих гострих генералізованих судомних проявів свідчить про модуляцію під впливом блокаторів кальцієвих каналів гліцин- та холінергічних нейротрансмітерних механізмів, а також системи збуджувачих амінокислоти.
5. Вважаємо отримані результати експериментальним обґрунтуванням доцільності продовження досліджень та з'ясування особливостей

ймовірної протисудомної активності блокади кальцієвих каналів на моделі хронічного судомного синдрому, релевантного клінічній маніфестації епілепсії, що підвищить експериментальну доказову базу доведення ефективності блокади кальцієвих каналів з метою пригнічення ЕпА.

Література

1. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О., Бурешова Д. Хьюстон. — М.: Высшая школа, 1991. — 400 с.
2. Вастьянов Р.С. Патологические механизмы эпилептической активности при хронической эпилепсии (экспериментальное исследование) / Р.С. Вастьянов. — Дис. ... доктора медицинских наук. — Одеса, 2013. — 329 с.
3. Вастьянов Р.С. Влияние блокаторов кальциевых каналов на перебои хронической судомной активности за умов відтворення епілептичного статусу / Р.С. Вастьянов // Актуальні проблеми транспортної медицини. — 2022. — №3 (69). — С. 92-101.
4. Дизрегуляторная патология нервной системы / под ред. Е. И. Гусева, Г. Н. Крыжановского. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство». — 2009. — 512 с.
5. Карпова М.Н. Влияние блокатора Са-каналов риодипина на очаговую и генерализованную эпилептическую активность / М.Н. Карпова, О.Ю. Панков, Р.Н. Глебов, С.К. Герман, В.Е. Клуша, Г.Я. Дубур // Бюл. эксперим. биол. мед. — 1989. — №11. — С. 553-555.
6. Карпова М.Н. Влияние нового аминокислотсодержащего 1,4-дигидропиридина глутапирона на фокальную пенициллин-индуцированную эпилептическую активность и судороги, вызванные бикукулином и тиосемикарбазидом / М.Н. Карпова, С.К. Герман, О.Ю. Панков, В.Е. Клуша, Г.Я. Лубур // Бюл. эксперим. биол. мед. — 1993. -№10. — С. 357-360.
7. Крыжановский Г.Н. Детерминантные структуры в патологии нервной системы / Г.Н. Крыжановский. — М.: Медицина, 1980. — 358 с.
8. Михайлов И.Б. Настольная книга врача по клинической фармакологии / И.Б. Михайлов. — СПб: Фолиант, 2001. — С. 284-288.

9. Avanzini G. Cellular biology of epileptogenesis / G. Avanzini, S. Franceschetti // *Lancet Neurol.* — 2003. — N2. — P. 33–42.
10. Beck H. Voltage-dependent Ca^{2+} currents in epilepsy / H. Beck, R. Steffens, C.E. Elger, U. Heinemann // *Epilepsy Res.* — 1998. — Vol. 32, N1-2. — P. 321–332.
11. Bruun D.A. Combined treatment with diazepam and allopregnanolone reverses tetramethylenedisulfotetramine (TETS)-induced calcium dysregulation in cultured neurons and protects TETS-intoxicated mice against lethal seizures / D.A. Bruun, Z. Cao, B. Inceoglu, S.T. Vito, A.T. Austin, S. Hulsizer, B.D. Hammock [et al.] // *Neuropharmacology.* — 2015. — Vol. 95. — P. 332–342.
12. Lüscher W. Drug Resistance in Epilepsy: Clinical Impact, Potential Mechanisms, and New Innovative Treatment Options / W. Lüscher, H. Potschka, S.M. Sisodiya, A. Vezzani // *Pharmacol Rev.* — 2020. — Vol. 72, N 3. — P. 606–638
13. Moroz V.M. Physiology: Textbook / V.M. Moroz, O.A. Shandra, R.S. Vastyanov, M.V. Yoltukhivsky, O.D. Omelchenko. — Vinnytsia: Nova Knyha, 2016. — 722 c.
14. Pisani A. Intracellular calcium increase in epileptiform activity: modulation by levetiracetam and lamotrigine / A. Pisani, P. Bonsi, G. Martella, C. De Persis, C. Costa, F. Pisani, G. Bernardi, P. Calabresi // *Epilepsia.* — 2004. — Vol. 45, N 7. — P. 719–728.
15. Pisani A. L-type Ca^{2+} channel blockers attenuate electrical changes and Ca^{2+} rise induced by oxygen/glucose deprivation in cortical neurons / A. Pisani, P. Calabresi, A. Tozzi, V. D'Angelo, G. Bernardi // *Stroke.* — 1998. — Vol. 29, N1. — P. 196–201.
16. Straub H. Paroxysmal depolarization shifts induced by bicuculline in CA_3 neurons of hippocampal slices: suppression by the organic calcium antagonist verapamil / H. Straub, E.J. Speckmann, D. Bingmann, J. Walden // *Neurosci Lett.* — 1990. — Vol. 111, N1-2. — P. 99–101.
17. Sun D.A. Calcium-dependent epileptogenesis in an in vitro model of stroke-induced “epilepsy” / D.A. Sun, S. Sombati, R.E. Blair, R.J. DeLorenzo // *Epilepsia.* — 2002. — Vol. 43, N11. — P. 1296–1305.
18. Thijs R.D. Epilepsy in adults / R.D. Thijs, R. Surges, T.J. O'Brien, J.W. Sander // *Lancet.* — 2019. — Vol. 393, N 10172. — P. 689–701.
19. Vastyanov R.S. Calcium Channels Participate in the Induction of Status Epilepticus by Kainate in Rats / R.S. Vastyanov // *Neirofizyologiya/ Neurophysiology.* — 2000. — Vol. 32, N3. — P. 175 — 177.
20. Xu J.H. Voltage-Dependent Calcium Channels, Calcium Binding Proteins, and Their Interaction in the Pathological Process of Epilepsy / J.H. Xu, F.R. Tang // *Int. J. Mol. Sci.* — 2018. — Vol. 19, N9. — P. 2735.
21. Zang K. The Large Conductance Calcium- and Voltage-activated Potassium Channel (BK) and Epilepsy / K. Zang, Y. Zhang, J. Hu, Y. Wang // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* — 2018. — Vol. 17, N4. — P. 248–254.

References

1. Byresh Ya., Byreshova O., Kh'yucton D. Metodiki i osnovnyye ekcnerimenty no izycheniyu mozga i novedeniya M: Vychshaya shkola, 1991: 400 [In Russian].
2. Vastyanov R.S. Patofiziolohichni mekhanizmy epileptychnoyi aktyvnosti pry khronichnyy epilepsiyi (eksperymental'ne doslidzhennya). Dys. ... doktora medychnykh nauk. Odessa, 2013: 329 [In Ukrainian].
3. Vastyanov R.S. Vplyv blokatoriv kal'ciyevykh kanaliv na perebih khronichnoyi sudomnoyi aktyvnosti za umov vidtvorennya epileptychnoho statusu. Aktual'ni problemy transportnoyi medytsyny. 2022; 3 (69): 92-101 [In Ukrainian].
4. Dizregulyatsionnaya patologiya nervnoy sistemy / Ye.I. Gusev, G.N. Kryzhanovskiy (Eds.). M: OOO “Meditsinskoye informatsionnoye agenstvo”, 2009: 512 [In Russian]
5. Karpova M.N., Pankov O.Yu., Glebov R.N., German S.K., Klusha V.Ye., Dubur G.Ya. Vliyaniye blokatora Ca-kanalov riodipina na ochagovuyu i generalizovannuyu epilepticheskuyu aktivnost'. Byul. eksperim. biol. med. 1989; 11: 553–555 [In Russian].
6. Karpova M.N., German S.K., Pankov O.Yu., Klusha V.Ye., Lubur G.Ya. Vliyaniye novogo aminokislotsoderzhashchego 1,4-digidropiridina glutapirona na fokal'nyu penitsillin-indutsirovannuyu epilepticheskuyu aktivnost' i sudorogi, vyzvannyye bikukulinom i tiosemikarbazidom. Byul. eksperim. biol. med. 1993; 10: 357–360 [In Russian].
7. Kryzhanovskiy G.N. Determinantnyye struktury v patologii nervnoy sistemy. M: Meditsina, 1980: 358 c [In Russian].

8. Mikhaylov I.B. Nastol'naya kniga vracha po klinicheskoy farmakologii. SPb.: Foliant, 2001: 284-288 [In Russian].
9. Avanzini G, Franceschetti S. Cellular biology of epileptogenesis. *Lancet Neurol.* 2003; 2: 33-42.
10. Beck H, Steffens R, Elger CE, Heinemann U. Voltage-dependent Ca²⁺ currents in epilepsy. *Epilepsy Res.* 1998; 32 (1-2): 321-232.
11. Bruun DA, Cao Z, Inceoglu B, Vito ST, Austin AT, Hulsizer S, Hammock BD, Tancredi DJ, Rogawski MA, Pessah IN, Lein PJ. Combined treatment with diazepam and allopregnanolone reverses tetramethylenedisulfotetramine (TETS)-induced calcium dysregulation in cultured neurons and protects TETS-intoxicated mice against lethal seizures. *Neuropharmacology.* 2015; 95: 332-342.
12. Lüscher W, Potschka H, Sisodiya SM, Vezzani A. Drug Resistance in Epilepsy: Clinical Impact, Potential Mechanisms, and New Innovative Treatment Options. *Pharmacol Rev.* 2020; 72 (3): 606-638
13. Moroz VM, Shandra OA, Vastyanov RS, Yoltukhivsky MV, Omelchenko OD. *Physiology: Textbook.* Vinnytsia: Nova Knyha, 2016: 722.
14. Pisani A, Bonsi P, Martella G., De Persis C., Costa C. Pisani F., Bernardi G., Calabresi P. Intracellular calcium increase in epileptiform activity: modulation by levetiracetam and lamotrigine. *Epilepsia.* 2004; 45 (7): 719-728.
15. Pisani A, Calabresi P, Tozzi A, D'Angelo V, Bernardi G. L-type Ca²⁺ channel blockers attenuate electrical changes and Ca²⁺ rise induced by oxygen/ glucose deprivation in cortical neurons. *Stroke.* 1998; 29 (1): 196-201.
16. Straub H, Speckmann EJ, Bingmann D, Walden J. Paroxysmal depolarization shifts induced by bicuculline in CA₃ neurons of hippocampal slices: suppression by the organic calcium antagonist verapamil. *Neurosci Lett.* 1990; 111 (1-2): 99-101.
17. Sun DA, Sombati S, Blair RE, DeLorenzo RJ. Calcium-dependent epileptogenesis in an in vitro model of stroke-induced "epilepsy." *Epilepsia.* 2002; 43 (11): 1296-1305.
18. Thijs RD, Surges R, O'Brien TJ, Sander JW. Epilepsy in adults. *Lancet.* 2019; 393 (10172): 689-701.
19. Vastyanov RS. Calcium Channels Participate in the Induction of Status Epilepticus by Kainate in Rats. *Neirofiziologiya/ Neurophysiology.* 2000; 32 (3): 175-177.
20. Xu JH, Tang FR. Voltage-Dependent Calcium Channels, Calcium Binding Proteins, and Their Interaction in the Pathological Process of Epilepsy. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (9): 2735.
21. Zang K, Zhang Y, Hu J, Wang Y. The Large Conductance Calcium- and Voltage-activated Potassium Channel (BK) and Epilepsy. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2018; 17 (4): 248-254.

*Вперше надійшла до редакції 11.09.2022 р.
Рекомендована до друку на засіданні
редакційної колегії після рецензування*