

І. В. Погоріла

# ВПЛИВ ПОХІДНОГО ПЕПТИДАМІДОБЕНЗОФЕНОНУ НА ХРОНІЧНУ ЕПІЛЕПТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ КОРАЗОВОГО КІНДЛІНГУ У ЩУРІВ

Одеський державний медичний університет

У сучасному світі досить поширені захворювання центральної нервової системи, зокрема епілепсія. З кожним роком спостерігається підвищення темпів зростання даної патології та інвалідизація населення. Незважаючи на велику кількість антиконвульсантів, сьогодні проблема протисудомної терапії не вирішена. У 20–30 % пацієнтів епілептичні напади не піддаються терапії існуючими протиепілептичними препаратами. Це пов'язано зі складнощами патогенезу та резистентністю до препаратів цієї групи, тому є актуальною розробка високоактивних і безпечних антиконвульсантів [1].

Дослідження протисудомної дії нових біологічно активних речовин (БАР) передбачає використання моделей епілептичного синдрому, які достатньою мірою відображають особливості перебігу клінічних форм захворювань. Однією з таких моделей є кіндлінг, який відтворюється повторним застосуванням підпорогових доз епілептогенів [2; 3]. Відмінністю цього синдрому є можливість відтворення постійного підвищення збудливості утворень головного мозку, яка зберігається впродовж невизначеного часу з моменту виникнення, тобто протягом усього життя тварини [3]. За умов кіндлінгу встановлено протиепілептичну ефективність бензодіазепінів та інших протиепілептичних препаратів [4; 5]. Визначена роль

окремих утворень мозку в механізмах реалізації бензодіазепінових препаратів, зокрема діазепаму [2; 3].

Одним із нових перспективних антиконвульсантів, синтезованих у Одеському національному університеті ім. І. І. Мечникова на основі пептидамідобензофенону (ПАБФ), є 2-N-карбобензил-гліциламід-5-бромбензофенон [6]. Залишаються невизначеними ефекти даної БАР щодо проявів хронічного епілептичного синдрому, тому **метою** даного дослідження було вивчення впливу нової БАР на прояви кіндлінгу, який відтворено повторним застосуванням підпорогової дози коразолу у щурів.

## Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження виконані на щурах масою 180–270 г лінії Вістар, розведених та утримуваних у виварії Одеського державного медичного університету МОЗ України. Досліди проводилися відповідно до вимог GLP, біоетики та методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України [7].

Кіндлінг у щурів відтворювали за допомогою щоденних внутрішньочеревинних (в/ч) введень коразолу ("Sigma-Aldrich", Німеччина) підпороговою дозою 25,0 мг/кг. За тваринами спостерігали протягом 30 хв після кожного застосування коразолу. Усього проводили

21 введення епілептогену. Оцінку тяжкості судом проводили за шестибальною шкалою [3]: 0 балів — відсутність судом; 1 бал — судомні здригання окремих груп м'язів; 2 бали — клонічні судоми м'язів тулуба та кінцівок; 3 бали — повторні клонічні судоми передніх кінцівок з підйомом щурів на задні кінцівки («поза кенгуру»); 4 бали — генералізований клоніко-тонічний напад з падінням тварини на бік, постнападовою депресією; 5 балів — повторні генералізовані клоніко-тонічні напади та/або летальний кінець.

Похідне ПАБФ застосовували дозами 0,1 і 0,5 мг/кг за 30 хв до введення тестуючої дози коразолу. Щурам групи контролю за тих же умов, перед кожним уведенням епілептогену, застосовували введення розчинника похідного ПАБФ — розчин «Твін-80» відповідним об'ємом.

Статистичну обробку результатів дослідження (латентний період перших і максимальних судом) проводили із використанням методу one-way ANOVA і критерію Newman-Keuls. Тяжкість судом оцінювали за допомогою критерію Kruskal-Wallis.

## Результати дослідження та їх обговорення

У групі контролю повторні застосування коразолу супроводжувалися виникненням перших судомних здригань м'язів голови, які спостерігалися вже



після 3-ї ін'єкції епілептогену (рис. 1). Протягом наступних 4-го та 5-го введень епілептогену спостерігалось підвищення інтенсивності здригань, виникнення клонічних судом м'язів тулуба та кінцівок, і після 7-го застосування коразолу виникав генералізований клоніко-тонічний напад з падінням щура на бік і виникненням післянападової депресії. Після 9–12-ї ін'єкції епілептогену судоми спостерігались у 70 % експериментальних тварин, причому у 3 із них були генералізовані судомні прояви. Наступні 3–4 ін'єкції коразолу спричинювали судомні прояви в усіх експериментальних тварин, із яких у 60 % спостерігались генералізовані клоніко-тонічні напади. Після 20-го застосування коразолу в усіх експериментальних тварин були генералізовані клоніко-тонічні судомні напади.

Застосування коразолу за умов попереднього введення досліджуваної БАР дозою 0,1 мг/кг супроводжувалося виникненням перших судомних здригань після 5-го застосування епілептогену, а після 6-го введення коразолу у 2 із 11 щурів реєструвалися судомні здригання (див. рис. 1). Наступні введення епілептогену супроводжувалися посиленням ви-

раженості судомних здригань, які після 10-го введення епілептогену спостерігались у 3 щурів, а у 1 з них виникав генералізований клоніко-тонічний судомний напад. Причому середня тяжкість судом після 9-го введення коразолу була меншою від такої в групі контролю в 5,0 разів ( $P < 0,05$ ). Вірогідні відмінності між групами зберігалися до кінця спостереження, причому після 15-го застосування коразолу в групі з застосуванням даної БАР судоми виникали у 63,6 % щурів (у контролі — 90,0 %), а генералізовані клоніко-тонічні напади — у 27,3 % порівняно з 50,0 % у контролі. Останнє (21-ше) застосування коразолу спричинювало судоми в усіх тварин із застосуванням нової БАР, хоча генералізовані напади спостерігались у 60 % тварин, а середня тяжкість судомних проявів була меншою від такої в групі контролю на 27,5 % ( $P < 0,05$ ).

У групі щурів із застосуванням досліджуваної БАР дозою 0,5 мг/кг перші судомні прояви спостерігались після 6-го застосування коразолу і впродовж наступних 6 ін'єкцій виявлялись у формі здригань м'язів голови та клонічних судом м'язів тулуба, що спостерігались відповідно у 3 і 1 щура з 12 піс-

ля 12-го застосування епілептогену (див. рис. 1). У цей період середня тяжкість судом була на 60,7 % меншою, ніж у групі щурів із застосуванням даної БАР дозою 0,1 мг/кг ( $P > 0,05$ ). Перші генералізовані судоми спостерігались після 13-го застосування епілептогену, після 15-го його введення генералізовані напади реєструвалися у 16,7 % — у цей період тяжкість судом була меншою від такої в контролі в 2,33 разу ( $P < 0,05$ ) та на 33,5 % меншою, ніж у групі щурів із застосуванням даної БАР меншою дозою ( $P > 0,05$ ). Подальші введення епілептогену супроводжувалися збільшенням кількості щурів із судомами та генералізованими нападами, які після останнього (21-го) застосування коразолу реєструвалися відповідно у 75,0 і 30,0 % експериментальних тварин.

Застосування коразолу (30,0 мг/кг) після тижневої перерви з моменту останнього введення фармакологічних речовин (коразолу та досліджуваної БАР) засвідчило виникнення генералізованих судомних нападів у 8 із 10 щурів групи контролю, причому у 2 із них напади носили повторний характер. При цьому латентний період перших і максимальних (генералізованих) судом становив відповідно  $(1,23 \pm 0,60)$  та  $(11,2 \pm 1,3)$  хв. У групі з застосуванням нової БАР дозою 0,1 мг/кг генералізовані судомні напади спостерігались у 8 з 11 щурів, у одному випадку вони були повторними, а в групі з застосуванням дозою 0,5 мг/кг генералізовані напади реєструвалися у 10 з 12 щурів, причому у 4 тварин вони мали повторний характер. Досліджувані показники тяжкості та латентності виникнення судом у групах не відрізнялися від контролю ( $P > 0,05$ ) (рис. 2).

За умов моделювання розвиненого кіндлінгу (24 год з моменту останнього застосування коразолу) — введення нової БАР дозою 0,1 мг/кг — спо-

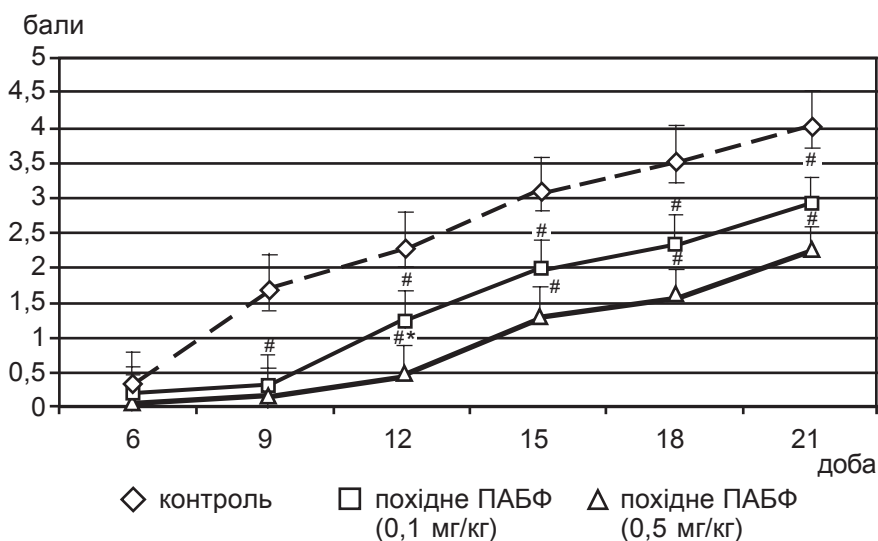


Рис. 1. Динаміка формування кіндлінгових проявів у щурів за умов застосування похідного ПАБФ; на рис. 1, 3: # — вірогідно щодо групи контролю ( $P < 0,05$ ); \* — вірогідно щодо групи щурів із застосуванням похідного ПАБФ ( $P < 0,05$ )



стерігалось вірогідне збільшення латентного періоду генералізованих судомних нападів на 48,0 % (рис. 3, а). За цих умов у 5 з 10 експериментальних тварин спостерігалось виникнення генералізованих судомних нападів і тяжкість судом у групі не відрізнялася від такої в контролі ( $P>0,05$ ). На фоні застосування досліджуваної БАР дозою 0,5 мг/кг латентний період перших судом був у 2,4 разу, а латентний період генералізованих нападів — в 1,8 разу більшим, ніж у групі конт-

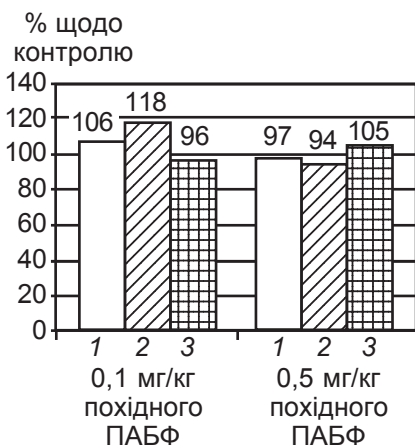
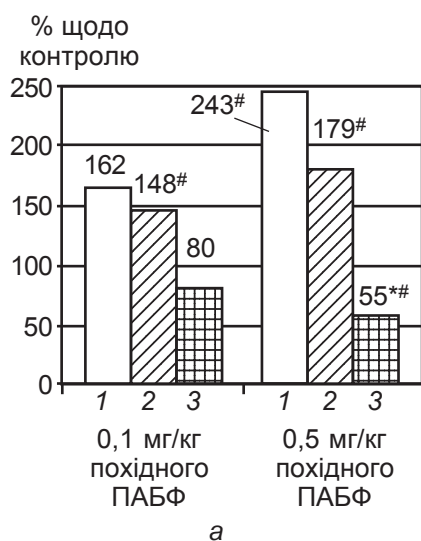


Рис. 2. Тестування судом у щурів після тижневої перерви у застосуванні похідного ПАБФ. На рис. 2, 3: 1 — латентний період судом; 2 — латентний період генералізованих нападів; 3 — тяжкість судом



ролю ( $P<0,05$ ). Генералізовані судомні напади спостерігалися у 2 із 10 щурів, а середня тяжкість судом була на 45,0 % нижчою від відповідного показника в групі контролю ( $P<0,05$ ). У віддаленому періоді коразолового кіндлінгу застосування коразолу на фоні введення нашої БАР дозою 0,1 мг/кг показало невірогідні тенденції до збільшення латентності перших і генералізованих судом із незначною редукцією (на 7,1 %) їх тяжкості ( $P>0,05$ ) (див. рис. 3, б). Застосування цієї БАР більшою дозою (0,5 мг/кг) супроводжувалося посиленням тенденції до збільшення латентності, а також вірогідною редукцією (на 19,0 %) тяжкості судомних проявів.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що досліджувана БАР уповільнює формування кіндлінгового синдрому, який спричинюється шляхом моделювання коразолового кіндлінгу у щурів. Причому його ефекти носять дозозалежний характер, і дозою 0,5 мг/кг запобігають формуванню кіндлінгових генералізованих проявів у 75,0 % експериментальних тварин.

Перерва у введенні препаратів засвідчила, що судомна готовність у кіндлінгових щурів

на фоні застосування похідного ПАБФ підвищується, незважаючи на відсутність поведінкових судомних реакцій. Цей факт вказує на можливу роль епілептиформних змін біоелектричної активності мозку як основний феномен підтримки власне механізмів кіндлінгу в умовах використання досліджуваної БАР.

На моделі віддаленого в часі кіндлінгу — через 3 тиж. з моменту останнього застосування епілептогену — протиепілептична дія похідного ПАБФ виявляється тільки за умови його застосування найвищою дозою (0,5 мг/кг). Зниження протиепілептичного впливу може пояснюватися наявністю фармакологічної резистентності епілептиформних проявів за вказаних умов тестування судомної активності, яка добре відома у відношенні до антиепілептичних препаратів, а також бензодіазепінів, і спостерігається на моделі віддаленого в часі кіндлінгового синдрому — як фармакологічного, так і електроподразнювального [2; 3].

Таким чином, похідне ПАБФ, демонструючи протиепілептичну ефективність на моделі коразолпровокованого кіндлінгового синдрому, не запобігає виникненню підвищеної судомної готовності в процесі повторних введень коразолу, а фармакологічна резистентність, притаманна віддаленим у часі епілептиформним проявам кіндлінгу, також поширюється на дію похідного ПАБФ.

## Висновки

1. Застосування похідного ПАБФ (0,1 і 0,5 мг/кг) спричинює дозозалежну затримку формування генералізованих кіндлінгових судом, але не запобігає розвитку підвищеної судомної готовності у щурів.

2. Досліджувана БАР дозою 0,1 і 0,5 мг/кг спричинює дозозалежне збільшення латентного періоду перших судом, а також генералізованих судомних нападів у щурів із розвину-

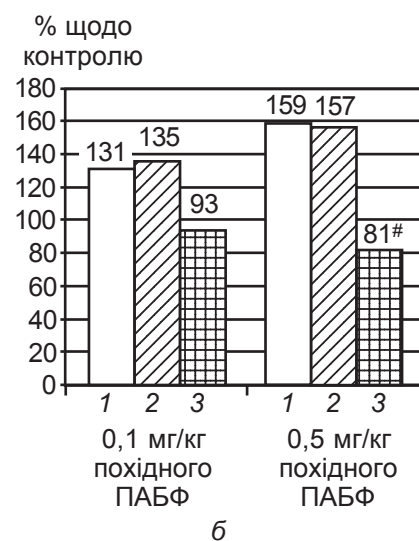


Рис. 3. Вплив похідного ПАБФ на сформовані кіндлінгові судомні напади у щурів у ранньому (а) та віддаленому (б) періодах коразолпровокованого кіндлінгу



тим коразоловим кіндлінгом. На моделі віддаленого в часі коразолового кіндлінгу (3 тиж. перерви введення епілептогену з моменту відтворення кіндлінгу) протисудомна дія, а саме зменшення тяжкості судом, спостерігалася при застосуванні похідного ПАБФ дозою 0,5 мг/кг.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бабушкина А. В. Актуальные вопросы неврологии, психиатрии и наркологии (по материалам научного симпозиума и пленума Научно-практического общества неврологов, пси-

хиатров и наркологов Украины) / А. В. Бабушкина // Український медичний часопис. — 2009. — № 6. — С. 20-21.

2. Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, В. Ф. Мустяца, Г. А. Дроздова. — Одесса : ОКФ, 2010. — 352 с.

3. Шандра А. А. Киндлинг и эпилептическая активность / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов. — Одесса : Астропринт, 1999. — 270 с.

4. Differences between the tolerance characteristics of two anticonvulsant benzodiazepines in the amygdaloid-kindled rat / K. Amano, S. Katsuragi,

J. Takamatsu [et al.] // Life Sci. — 2001. — Vol. 69, N 9. — P. 1049-1055.

5. Musto A. E. Different phases of afterdischarge during rapid kindling procedure in mice / A. E. Musto, M. S. Samii, J. F. Hayes // Epilepsy Res. — 2009. — Vol. 85, N 2-3. — P. 199-205.

6. Тотрова М. Ю. Структура и биокинетика производных пептидамидобензофенона и их активных метаболитов : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. хим. наук : спец. 02.00.10 / М. Ю. Тотрова. — Одесса, 1989. — 19 с.

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. чл.-кор. АМНУ О. В. Стефанова. — К. : Авіценна, 2001. — 528 с.

УДК 615.454.1:616.14-02:547.995.12

В. А. Рибак, В. М. Кузнєцова

## ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ГІСТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ДІЇ МАЗІ «ТРОФЕПАРИН» ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТРОМБОФЛЕБІТІ

Національний фармацевтичний університет, Харків

Проблема гарних ніг є не тільки косметичною, але й медичною. За даними медиків, близько 80 % жінок страждають на захворювання вен нижніх кінцівок, найчастіше — на варикозне розширення та тромбофлебіт. Чоловіки хворіють на них у п'ятеро рідше. За образним висловлюванням J. van der Stricht, варикозна хвороба стала «платою людства за можливість прямоходіння» [1].

Тромбофлебіт як ускладнення варикозної хвороби розвивається не відразу — через п'ять років у 10–15 % випадків, через 10 років — у 50 % [1–3]. Підступність варикозної хвороби полягає в тому, що дуже довго вона залишається лише косметичним дефектом і не завдає людині особливих незручностей. Поява відчуття тяжкості та втоми в ногах, невеликих розширених вен на гомілці (судинних «зірочок» і «сіточок») — це перший сигнал про неблагополуччя. Коли з'являються набряки, шкіра темніє і стає «лако-

вою», забої та порізи на ногах довго не заживають — це вже другий, тривожніший сигнал: організм вичерпав можливості справитися з хворобою самостійно, і терміново потрібна допомога фахівця. Небезпечна варикозна хвороба і своїми ускладненнями. Трофічні виразки виникають через поганий відтік крові, і зонайменша травма провокує їх розповзання по всій гомілці. У варикозно розширених венах часто утворюються тромби, які у разі їх відриву від стінки судини з потоком крові потрапляють у легеневу артерію. Виникає тромбоемболія. Це вже загроза не тільки здоров'ю — життю. От чому з варикозом необхідно боротися на будь-якій стадії, не чекаючи ускладнень [3; 4].

Для досягнення успіху в лікуванні потрібно впливати на основні механізми розвитку хвороби: укріплювати стінку судини, покращувати властивості реологій крові та стан внутрішньої стінки судин. Безумовно,

ефект лікування залежить від стадії хвороби, на якій воно розпочато. Лікувально-реабілітаційна програма поєднує фізіотерапевтичне лікування і медикаментозну корекцію [4].

М'які лікарські форми (мазі: гепаринова, гепароїд, венітан (мазь і гель), венал крем, венозний гель доктора Тайса; гелі: репарил, гінкор, аесцин, долобене, венорутон, троксерутин, троксевазин) займають важливе місце в лікуванні та профілактиці варикозної хвороби, тромбофлебіту, вони користуються великою популярністю у лікарів і пацієнтів [4; 5].

За даними літератури, найпопулярнішими засобами в лікуванні варикозної хвороби, гострого тромбофлебіту є місцеві лікарські засоби з гепарином [3; 4]. Так, на кафедрі промислової фармації Національного фармацевтичного університету було створено нову комбіновану мазь «Трофепарин», до складу якої увійшли: гепарин — 0,07 г (10 000 ОД), метилура-

