

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОТРОПНОГО СПЕКТРА НЕКОТОРЫХ АНТИЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

И. А. Джагацпаян, Р. Г. Пароникян, И. М. Назарян¹

При исследовании фенобарбитала, дифенина, феноксисукцинимиды (милонтина), пуфемиды, натрия вальпроата и диазепама установлено, что наряду с антагонизмом с коразолом и электрошоком все препараты в основном предупреждали киндлинговые судороги у крыс на хронической модели — “раскачке миндалина”. В механизме этого действия, по-видимому, играют определенную роль возбуждающие аминокислоты. Показано также, что у животных с ретроградной электрошоковой амнезией эти антиконвульсанты восстанавливали утраченную память. Диазепам лишен этого действия. Введение диазепама, дифенина и натрия вальпроата “киндлинговым” крысам сопровождалось активацией спонтанных горизонтальных перемещений в условиях “открытого поля”, что может быть обусловлено наличием у этих препаратов противотревожного эффекта.

Ключевые слова: парциальная эпилепсия, киндлинговые судороги, психотропный спектр, ретроградная амнезия

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы арсенал противосудорожных средств расширился. Благодаря этому терапия больных эпилепсией стала более дифференцированной и индивидуализированной [6, 12]. До недавнего времени лечение этого заболевания было направлено в основном на ликвидацию припадков. Между тем известно, что тяжесть эпилепсии определяется не только количеством и характером ее пароксизмов, но и степенью психических изменений у больного. Эпилепсия, проявляющаяся малыми припадками, височная эпилепсия психомоторной, психосенсорной семиологии и эпилептические припадки автоматизма часто сопровождаются эмоциональными расстройствами: тревогой, страхом, напряжением, невротическими явлениями, нарушением памяти, что в свою очередь может приводить к эпилептическому слабоумию и деградации личности. Существующие бензодиазепиновые анксиолитики, часто используемые в противосудорожной терапии, несмотря на то, что в определенной мере стабилизируют поведение больного, не придают ощущения бодрости, вызывают сонливость и амнезию, что нежелательно для больных, находящихся на постоянном лечении [1, 6, 7, 12]. Правильный выбор лекарственных препаратов становится необходимым звеном в рациональной терапии эпилепсии. В связи с этим представляет интерес изучение психотропного профиля антиконвульсантов.

Задачей предпринятого исследования явилось экспериментальное изучение психотропного спектра противосудорожных препаратов из разных химиче-

ских классов с использованием различных методических приемов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили в дневное время при естественном освещении на 162 белых мышках-самцах (24 группы) массой 18 – 24 г и 181 крысах-самцах (30 групп) массой 150 – 220 г линии Вистар. Количество животных в контрольных и опытных сериях колебалось от 6 до 12. До опыта животных содержали в обычных условиях со свободным доступом к пище и воде. Противосудорожный седативный, антиамнестический и миорелаксантный эффекты противосудорожных препаратов исследовали на простых и сложных моделях поведения животных [4].

Действие препаратов на судорожные проявления оценивали по предотвращению клонических судорог, вызываемых подкожным введением коразола (90 мг/кг) и тонической экстензии максимального электрошока [2, 5].

Противосудорожный эффект изучали также на сложной модели парциальной эпилепсии — “раскачка миндалина” — у крыс в хроническом эксперименте [10]. С этой целью биполярные константановые электроды вживляли наркотизированным уретаном (1000 мг/кг, внутривенно) животным в базолатеральные амигдаларные ядра, дорсальный гиппокамп, а индифферентный электрод — в носовую часть черепа. Координаты для вживления регистрирующих и раздражающих электродов определяли по атласу [13]. Эксперименты начинали спустя 1 – 2 недели после операции. Раздражение наносили посредством стимулятора постоянного тока в область амигдалы животного в течение двух недель. Параметры раздражения: прямоугольные импульсы длительностью 1 мс, частотой 100 гц, в течение 1 с один раз в день для получения “киндинга амигдалы”. Силу раздражения подбирали соответственно порогу для получения послеразрядов в амигдале и гиппокампе, она колебалась от 200 до 400 мА. Степень выраженности пароксизмов при раскачке определяли по модифицированной шкале Расина [15]. Биоэлектрическую регистрацию производили с помощью энцефалографа фирмы “Медикор” (Венгрия).

О седативном действии судили по угнетению ориентировочных рефлексов в тесте “залезания мышшей на сетку”. Центральный миорелаксантный эффект оценивали по проявлению миорелаксации, нарушению координации в тесте “вращающегося стержня” у мышшей [2, 5].

Изучали также влияние антиконвульсантов на спонтанную двигательную активность крыс в модели “открытое поле” [2]. Использовалась установка, дно которой разделено на квадраты. В течение 5 мин эксперимента определяли количество горизон-

¹ Лаборатория психофармакологии (зав. — И. А. Джагацпаян) Института тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна НАН Республики Армения, Ереван, 375001, просп. Азатутян, 26.

тальных перемещений (пересечений квадратов) у опытных и контрольных групп животных. Вычисляли степень изменения этого параметра.

Для суждения о воздействии изучаемых антиэпилептических средств на мнестические функции у крыс вырабатывали условную реакцию пассивного избегания (УРПИ) с последующим применением электросудорожного припадка в качестве амнестического фактора. Увеличение времени пребывания животных в светлом отсеке камеры в сравнении с контролем на 2-й день эксперимента свидетельствовало о наличии антиамнестического действия [2].

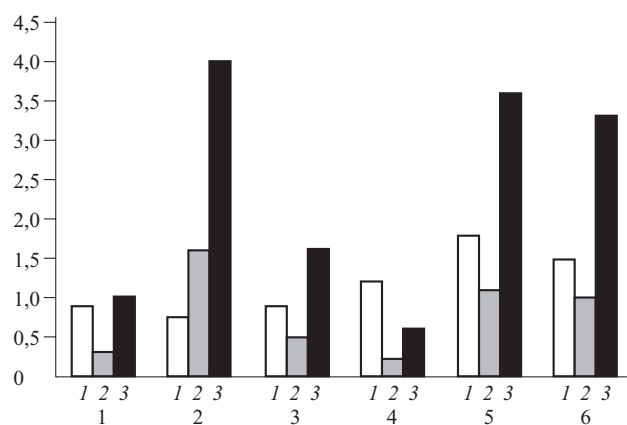
Методы исследования противосудорожного, седативного и миорелаксантного эффектов и статистической обработки их результатов с определением 50 % эффективных (ЭД₅₀) доз представлены нами ранее [2, 5].

При исследовании на моделях “киндлинга”, ретроградной амнезии и “открытое поле” диазепам (2 мг/кг), фенобарбитал (20 мг/кг), дифенин, 40 мг/кг, вальпроат натрия (депакин), 200 мг/кг, милонтин (феноксисукцинимид), 200 мг/кг, пуфемид (200 мг/кг), вводили в терапевтических дозах. Во всех исследованиях препараты вводили внутривенно в виде суспензии с твин-80 за 45 мин до начала тестирования. Контрольным крысам вводился эмульгатор.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе данных по противосудорожным эффектам на простых моделях, представленных в табл. 1 и 2, можно видеть, что почти все исследуемые антиконвульсанты (фенобарбитал, милонтин, пуфемид, натрия вальпроат) предупреждают клонические судороги при подкожном введении коразола. Так, для фенобарбитала ЭД₅₀ составляет у мышей 7 мг/кг, у крыс — 12,5 мг/кг. Относительно мало эффективен на этой модели натрия вальпроат (ЭД₅₀ у мышей 203 мг/кг). У диазепама в этих условиях проявляется наибольшая активность: у мышей ЭД₅₀ 5 мг/кг, у крыс — 0,2 мг/кг. Дифенин практически не предупреждает судорожное действие коразола. Примерно в тех же дозах антиконвульсанты защищают от максимальных электрических судорог. Дифенин в отношении электрошока у мышей и крыс весьма эффективен.

Из табл. 2 можно видеть, что фенобарбитал (20 мг/кг), милонтин (200 мг/кг), пуфемид (200 мг/кг), натрия вальпроат (200 мг/кг) и диазепам (2 мг/кг) в максимально действующих дозах повышают порог электрических киндлинговых судорог на модели “раскачки амигдалы” у крыс. Так, фенобарбитал предупреждает полностью парциальные судороги, а



Влияние фенобарбитала 30 мг/кг (1), дифенина 40 мг/кг (2), милонтина 200 мг/кг (3), пуфемиды 200 мг/кг (4), диазепама 2 мг/кг (5), натрия вальпроата 200 мг/кг (6) на спонтанное поведение (горизонтальные перемещения) крыс в модели “открытое поле”.

На оси ординат — степень изменений горизонтальных перемещений в сравнении с контролем, принятым за единицу (при $p = 0,05$). 1 — показатели поведения крыс, получавших препараты, в сравнении с поведением интактных животных; 2 — показатели поведения крыс с “киндлингом”, получавших препараты, в сравнении с поведением интактных животных; 3 — показатели поведения крыс с “киндлингом”, получавших препараты, в сравнении с поведением животных с “киндлингом”.

диазепам повышает порог с 260 мА у контрольных животных до 500 мА. Натрия вальпроат, который в эксперименте на простых моделях судорог был мало эффективен, в условиях киндлинга оказывал выраженное действие и повышал порог судорог до 490 мА. Особое положение занимает дифенин. В дозе 40 мг/кг он слабо предупреждал киндлинговые судороги.

Все исследуемые антиконвульсанты вызывают у мышей центральные миорелаксантные эффекты, что выражается в утрачивании животными способности удерживаться на вращающемся стержне. Это действие проявляется в дозах, заметно превосходящих основные противосудорожные (ЭД₅₀ для фенобарбитала у мышей 46 мг/кг, а у крыс — 16,5 мг/кг). Ориентировочные рефлексы у животных под влиянием антиконвульсантов угнетаются примерно на том же уровне доз, в которых появляется миорелаксация, и опытные мыши, в отличие от контрольных, предпочитают свет-

Таблица 1. Спектр нейротропной активности противоэпилептических средств у мышей

Вещество	Антагонизм с коразолом (ЭД ₅₀ мг/кг)	Антагонизм с максимальным электрошоком (ЭД ₅₀ мг/кг)	Миорелаксация (ЭД ₅₀ мг/кг)	Угнетение ориентировочных рефлексов (ЭД ₅₀ мг/кг)
Натрия вальпроат	203 (179,6 ÷ 229,4)	280 (250,0 ÷ 310,8)	350 (331,1 ÷ 370,0)	320 (271,2 ÷ 377,6)
Фенобарбитал	12,5 (8,3 ÷ 18,7)	17,0 (14,3 ÷ 19,7)	46,0 (29,6 ÷ 71,3)	80,0 (71,6 ÷ 89,4)
Дифенин	< 800	21,0 (16,7 ÷ 26,5)	54,6 (49,7 ÷ 64,0)	75,0 (65,2 ÷ 86,3)
Милонтин	87 (60,8 ÷ 124,3)	64 (47,4 ÷ 86,4)	350 (365,1 ÷ 462,0)	200 (142,8 ÷ 280,0)
Пуфемид	86 (58,1 ÷ 127,3)	77 (52,7 ÷ 112,3)	450 (365,8 ÷ 553,0)	185 (132,8 ÷ 262,7)
Диазепам	0,5 (0,4 ÷ 0,7)	3,5 (1,7 ÷ 7,0)	2,7 (1,4 ÷ 5,5)	2,8 (2,3 ÷ 3,2)

Примечание. Здесь и в табл. 2: в скобках — уровни вероятности при $P = 0,05$.

лый отсек камеры темному, куда они перебираются по наклонной сетке (табл. 1, 2).

Интересные закономерности отмечаются на электрошоковой модели УРПИ, имитирующей ретроградную амнезию у крыс. Из табл. 2 видно, что фенобарбитал (20 мг/кг), милонтин (200 мг/кг), пуфемид (200 мг/кг), натрия вальпроат (200 мг/кг) восстанавливали утраченную память. На второй день эксперимента животные находились в светлой камере значительно продолжительнее, чем контрольные. Диазепам (2 мг/кг) не оказывал влияния на мнестические функции.

В условиях “открытого поля” (рисунок) при изучении горизонтальных перемещений крыс степень изменений показателей поведения интактных животных, получавших препараты, незначительно превосходила контрольные показатели (введение эмульгатора), принятые за 1. Так, они составляли для фенобарбитала 0,88, диазепама — 1,8, дифенина 0,75, натрия вальпроата — 1,5. Под влиянием фенобарбитала, милонтина и пуфемиды отмечается тенденция к угнетению поведения у “киндлинговых” крыс в сравнении с интактными животными. Дифенин, диазепам и натрия вальпроат лишены этого действия (см. рисунок, 2). При сравнении показателей горизонтальных перемещений животных с экспериментальной парциальной эпилепсией на фоне препаратов и без них наблюдается повышение степени изменений поведения до 4, 3,6 и 3,3 для дифенина, диазепама и натрия вальпроата соответственно (см. рисунок, 3).

В результате проведенного исследования обнаружено, что антиконвульсанты фенобарбитал, дифенин, милонтин, пуфемид, натрия вальпроат, диазепам в эксперименте на животных оказывают неодинаковое влияние на разные виды моделируемых судорог. Так, почти все препараты предотвращают коразоловые и электрошоковые судороги. Исключение составляет дифенин, который активен только по тесту “максимальный электрошок”. Своеобразно ведет себя натрия

вальпроат, противосудорожная активность которого на этих моделях слабо выражена, и пуфемид, защитное действие которого более значимо проявляется у мышей. При анализе антикоразоловой активности показано, что все препараты, кроме диазепама, не обладают избирательным действием и в одних и тех же дозах предотвращают как клонические коразоловые, так и тонические электрошоковые судороги. Следует отметить также, что антикоразоловый эффект наиболее выражен у диазепама, что обусловлено более выраженным анксиолитическим действием препарата, чем у остальных [12].

Интересные закономерности установлены на модели парциальных судорог (“киндлинг”) у крыс. Показано, что все изучаемые препараты, в том числе и натрия вальпроат, снижают пороги судорог у экспериментальных животных. Исключение составил дифенин, который в используемой дозе (40 мг/кг) не оказывал влияния на эти судороги. Полученные данные коррелируют с наблюдениями [15] относительно того, что дифенин действует слабее при “раскачке” миндалины и лучше — при судорогах, вызванных “раскачкой” неокортекса. Обнаруженные эффекты, возможно, связаны с участием в патогенезе этих пароксизмов возбуждающих аминокислот [8, 11, 12].

В настоящее время имеется много сведений относительно того, что парциальная форма эпилепсии сопровождается у больных затруднением запоминания и ментальной заторможенностью [1, 6, 12]. В связи с этим примечательно, что все отобранные для испытаний антиконвульсанты, кроме диазепама, в той или иной степени проявляли наряду с активностью в отношении “киндлинговых судорог” также и антиамнестическую активность и восстанавливали память у животных с электрошоковой ретроградной амнезией.

Особый интерес заслуживают результаты, полученные при исследовании “открытого поля” у крыс. Так, если фенобарбитал, милонтин и пуфемид восстанавливали у “киндлинговых” животных показатель гори-

Таблица 2. Спектр нейротропной активности противосудорожных средств у крыс

Вещество	Антагонизм с коразолом (ЭД ₅₀ , мг/кг)	Антагонизм с максимальным электрошоком (ЭД ₅₀ , мг/кг)	Изменение порога киндлинговых судорог, мА <i>M ± m</i>	Антиамнестический эффект (время нахождения в светлой камере в сек) на 2 день	Миорелаксация (ЭД ₅₀ , мг/кг)
Фенобарбитал	7,0 (5,4 ÷ 10,0)	7,2 (4,1 ÷ 12,6)	полностью предупреждает	118,6 (69,1 ÷ 168,1)	16,5 (9,5 ÷ 28,4)
Дифенин	700,0 (466,6 ÷ 1050)	30,0 (16,2 ÷ 55,5)	270 ± 44,7	151,6 (82,2 ÷ 221,0)	> 3000
Милонтин	50,0 (42,0 ÷ 59,5)	16,5 (12,9 ÷ 21,1)	400 ± 40,8	98,1 (51,5 ÷ 144,7)	125 (71,8 ÷ 217,5)
Пуфемид	340,0 (219,3 ÷ 527,0)	220,0 (166,6 ÷ 290,4)	600 ± 58,1	107,0 (49,7 ÷ 164,3)	140 (107,7 ÷ 182,0)
Диазепам	0,2 (0,12 ÷ 0,3)	12,0 (6,4 ÷ 22,4)	500 ± 71,6	2,6 (1,9 ÷ 3,3)	12,0 (5,4 ÷ 16,4)
Натрия вальпроат	263,0 (232,8 ÷ 293,2)	345,0 (310,0 ÷ 385,0)	490 ± 65,2	61,6 (45,4 ÷ 107,8)	350 (331,1 ÷ 372,0)
Контроль	—	—	260 ± 67,1	3,7 (3,0 ÷ 4,5)	—

Примечание: На моделях парциальной эпилепсии и ретроградной амнезии препараты вводили крысам в дозах (мг/кг): фенобарбитал — 20, дифенин — 40, милонтин — 200, пуфемид — 200, диазепам — 2, натрия вальпроат — 200.

зонтальных перемещений до контрольных величин, то под влиянием диазепама, натрия вальпроата и дифенина имело место его увеличение в несколько раз, т.е. активация поведения. Отмеченное изменение поведения у крыс с парциальной эпилепсией под воздействием диазепама коррелирует с ранее опубликованными нами данными. Введение этого анксиолитика крысам в условиях “простой модели тревожности” приводило к учащению переходов животных из одной камеры в другую при получении накануне эксперимента электрического раздражения в одном из отсеков [2]. В связи с этим можно думать, что помещение крыс в “анксиогенные” условия новизны “открытого поля” после получения очередной “киндлинговой” стимуляции, по-видимому, приводит к усилению тревожности у этих животных, что предупреждается диазепамом [3]. Подобно этому классическому анксиолитику вели себя также дифенин и натрия вальпроат, активируя поведение животных в “открытом поле”. Сходство дифенина и натрия вальпроата с диазепамом по антитревожному эффекту позволяет предполагать наличие в механизме действия этих антиконвульсантов ГАМК-ергического компонента [9, 14].

ВЫВОДЫ

1. Противозепилептические средства фенобарбитал, милонтин, пуфемид, натрия вальпроат и диазепам проявляют антагонизм по отношению к коразолу и электрошоку, в терапевтических дозах предупреждают у крыс киндлинговые судороги в модели парциальной эпилепсии — “раскачка миндалина”. Дифенин не оказывает защитное действие в отношении коразоловых и киндлинговых судорог.

2. У крыс с ретроградной электрошоковой амнезией фенобарбитал, дифенин, милонтин, пуфемид и натрия вальпроат восстанавливают утраченную память.

3. Предварительное введение дифенина и натрия вальпроата крысам с хроническими киндлинговыми судорогами, сопровождается в условиях “открытого поля” активацией спонтанных горизонтальных перемещений животных, что, по-видимому, обусловлено наличием антитревожного эффекта у этих препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Болдырев, *Ж. неврол. и психиатр.*, № 7, 9 – 11 91998).
2. И. А. Джагацпаян, А. Б. Асрян, *Экспер. и клин. фармакол.*, 57(1), 5 – 8 (1994).
3. А. В. Калугин, Н. А. Нуца, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 5, 69 – 74 (1998).
4. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Изд. 13-е, Харьков: Торсинг (1998).
5. В. А. Шкулев, Л. С. Абовян, И. А. Джагацпаян и др., *Хим.-фарм. журн.*, № 2, 20 – 25 (1980).
6. R. Benbadeis and W. O. Tatum, *Am. Family Physician*, № 1, 1 – 11 (2001).
7. S. R. Benbadis, W. O. Tatum, and F. L. Vale, *Neurology*, № 55, 1780 – 1784 (2000).
8. C. V. Fraser, G. J. Sills, G. Forrest, et al., *British J. Pharmacol.*, № 126, 1634 – 1638 (1999).
9. D. W. Gallager, P. Mallorga, and Y. F. Tallman, *Brain Res.*, № 189, 209 – 220 (1980).
10. G. V. Goddard, D. C. McIntyre, and C. K. Leech, *Exp. Neurol.*, № 25, 295 – 339 (1969).
11. B. S. Meldrum, *Clin. Sci.*, № 68, 113 – 122 91985).
12. K. L. Melmon and H. F. Morelli, *Clinical Pharmacological basic Principles Therapeutics. Fourth Ed.*, Mc-RAW-Hill. Medical Publishing Division., 489 – 528 (2000).
13. G. Paxinos and C. Watson, *the Rat Brain. In: Stereotaxis Coordinates. 2-th Ed.*, Academic Press, Sydney (1986).
14. A. Perio, M. Jung, H. Benabde, et al., *Neurosci. Lett.*, Suppl., № 22, 339 (1995).
15. R. J. Racine, K. Livingstone, and A. Yoaquine, *Neurophysiology*, № 98, 255 – 305 (1975).

Поступила 25.09.02

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE NEUROTROPIC SPECTRUM OF SOME ANTIEPILEPTIC DRUGS

I. A. Dzhagatspanyan, R. G. Paronikyan, and I. M. Nazaryan

Laboratory of Psychopharmacology, Mndzhoyan Institute of Fine Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Armenia, prosp. Azatutyun 26, Yerevan, 375001 Armenia

Investigation of the psychotropic spectrum of phenobarbital, diphenin, milontin, pufemide, sodium valproate (depakine), and diazepam showed that, besides antagonism with the corazole and electroshock effects, all these drugs prevented to a considerable degree the kindling seizures in rats on a “tonsil swing” (chronic electroencephalographic partial epilepsy) model. The mechanism of this effect probably involves exciting amino acids. All anticonvulsants except for diazepam also restored memory in experimental animals with retrograde electroshock amnesia. The administration of diazepam, diphenin, and sodium valproate to rats with kindling convulsions led to activation of the spontaneous horizontal motions in the open-field test, which can be explained by the presence of anti-anxiety component in the drug action.