

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

УДК 615.214:159.9.019.4:616.8-009.1-092.9

DOI

## ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ВПЛИВУ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ З ГАМК-ТА ГЛУТАМАТЕРГІЧНОЮ ДІЄЮ НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ТА ЛОКОМОТОРНУ ФУНКЦІЮ У ЩУРІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

©Н. П. Шастун, В. І. Опришко

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія»*

**РЕЗЮМЕ.** В експериментальному дослідженні на білих нелінійних щурах вивчався вплив антиконвульсантів з різним механізмом дії на поведінкові реакції і координацію рухів. При внутрішньошлунковому введенні карбамазепіну (125 мг/кг) знижувалась горизонтальна (на 88,4 %) і вертикальна (на 89,7 %) рухова активність. Карбамазепін чинив найбільший негативний вплив і на локомоторну функцію, латентний час падіння якого знижувався в ротарод-тесті на 65,28 %. Найменший негативний ефект на горизонтальну рухову активність чинив габапентин (100 мг/кг). У дослідженні виявлено, що ламотриджин (30 мг/кг), як блокатор вивільнення глутамату, і топірамат (304 мг/кг) теж мали найменший вплив на горизонтальну рухову активність, знижуючи її на 55,4 % і 65,61 % відповідно. Таким чином, антиконвульсанти з переважною ГАМК-ергічною дією мали більш пригнічувальний ефект на координацію рухів і поведінкові реакції у тварин.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** антиконвульсанти, поведінкові реакції, ГАМК, глутамат.

**Вступ.** Майже усі лікарські препарати можуть викликати небажані побічні ефекти, що може стати причиною тяжких ускладнень або навіть призвести до летального результату. Особливість лікування багатьох захворювань, у тому числі й епілепсії, полягає в необхідності довготривалого, іноді пожиттєвого прийому ліків.

Поширеність побічних ефектів і ускладнень антиепілептичної терапії достатньо висока і складає, за даними багатьох авторів, від 7 до 25 % [1–3]. При розвитку тяжких ускладнень виникає необхідність відмовитись від препарату, навіть якщо він ефективний щодо контролю нападів, та змінити схему терапії. Медикаментозні ускладнення можуть негативно впливати на якість життя та соціальну адаптацію хворого, іноді більшою мірою, ніж саме захворювання.

Небажані побічні ефекти, пов'язані з прийомом антиконвульсантів, можуть бути обумовлені багатьма причинами: професійністю лікаря, супутніми захворюваннями, необхідність прийому ліків різних груп.

При застосуванні більшості протиепілептичних препаратів є поширеними побічні ефекти зі сторони центральної нервової системи – сонливість, нудота, запаморочення, зниження концентрації уваги [3].

Характер побічних дій протисудомної терапії залежить і від механізму дії антиконвульсантів, що є дуже важливим і на сьогоднішній день найменш вивченим [4]. Так, цілий ряд антиконвульсантів посилюють гальмівні процеси мозку за рахунок збільшення рівня гальмівного медіатора ГАМК (барбітурати, габапентин, вальпроат, тіагабін) [5].

Показано, що препарати, які збільшують ГАМК-ергічне гальмування, частіше, ніж інші, виклика-

ють у хворих порушення поведінкових реакцій, вони можуть призводити до розвитку снодійного та транквілізуючого ефектів, впливати на поведінку, викликати когнітивні розлади [6]. Вважають, що антиконвульсанти, механізм дії яких зводиться до блокади глутаматергічних рецепторів, більшою мірою характеризуються активуючою дією. До таких препаратів насамперед належать ламотриджин та топірамат. Однак топірамат, механізм дії якого пов'язаний з активацією ГАМК-ергічних систем і блокадою глутаматергічних рецепторів, має змішаний профіль психотропних ефектів [7]. Найчастіше при його застосуванні відмічають сонливість, запаморочення, стомлюваність, загальмованість психомоторних реакцій, порушення концентрації уваги, сплутаність свідомості, порушення пам'яті [6, 7]. Побічні дії антиконвульсантів, обумовлені механізмом дії, на сьогодні залишаються недостатньо вивченими.

**Мета роботи** – порівняльне дослідження впливу антиконвульсантів на поведінкові реакції та локомоторну функцію у щурів в експерименті.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження були проведені на 60 білих нелінійних щурах масою 180–220 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію (температура повітря (22±2) °С, світлий/темний цикл: 12/12 годин).

Препарати: вальпроат натрію («Депакін», таблетки по 300 мг, виробництва «Sanofi Winthrop Industria», Франція) в дозі 155 мг/кг, внутрішньошлунково, карбамазепін («Карбамазепін-Дарниця», таблетки по 200 мг, виробництва «Дарниця», Україна) – в дозі 125 мг/кг внутрішньошлунково, топірамат («Топіромат», таблетки по 100 мг, виробництва «Фарма Старт» Україна) в дозі 304 мг/кг, габапентин («Габагана», капсули по 300 мг, вироб-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

ництва Вьорваг Фарма ГмБХ, Німеччина) – в дозі 100 мг/кг, ламотриджин («Ламіктал», таблетки по 100 мг, виробництва Глаксо Сміт Кляйн Фармасьютікалз С.А., Польща) – в дозі 50 мг/кг. Усі препарати вводились внутрішньошлунково у максимально токсичних дозах [8, 9]. Всі тварини були випадково поділені на групи по 10 щурів.

Методи вивчення поведінки, локомоторної функції: тест «відкрите поле» дозволяє визначити тип дії лікарського засобу на ЦНС, а також з'ясувати характер його впливу на орієнтовно-дослідницьку активність і емоційну сферу експериментальних тварин [10]. Реєстрацію результатів тестування показників безумовно-рефлекторної активності щурів проводили шляхом підрахунку перетнутих квадратів (горизонтальна рухова активність), кількості підйомів на задні лапи (вертикальна рухова активність), кількості заглядань в «нірки» (дослідницька активність), тривалості актів грумінгу та кількості болюсів дефекацій (емоційно-вегетативні реакції) протягом 3 хвилин спостереження [11].

Ротарод-тест дозволяє дослідити вплив препаратів на координацію рухів. Метод полягає в тому, що за допомогою обертального стрижня оцінюється неспроможність тварин утримуватись на стрижні діаметром 7 см, який обертається зі

швидкістю 8 обертів за хвилину [12]. Реєстрували час, впродовж якого тварина утримувалась на стрижні. Спроба повторювалась три рази.

**Результати й обговорення.** У тесті «відкрите поле» ми маємо можливість вивчати поведінкову реакцію щурів, оцінити вираженість і динаміку окремих поведінкових елементів, рівень емоційно-поведінкової реактивності, дослідницьку та захисну поведінку тварин, здатність до запам'ятовування орієнтувальних стимулів, симптоми неврологічного дефіциту, локомоторну стереотипію тощо.

У результаті проведених досліджень виявлено, що у групі контролю (n=10) поведінка тварин характеризувалася наступними показниками: рухова (горизонтальна) активність за кількістю пройдених квадратів – (41,3±1,72) (M±m); вертикальна рухова активність («вертикальні стійки») – (8,7±0,59); кількість отворів («нірок») – (3,9±0,52); кількість умивань (актів грумінгу) – (1,3±0,3); число болюсів – (1±0,21).

Аналіз результатів тестування досліджуваних тварин виявив депримуєчу дію антиконвульсантів на орієнтовно-дослідницьку діяльність щурів. Як видно з таблиці 1, найвираженіша різниця у показниках горизонтальної рухової активності піддослідних щурів спостерігалась при введенні карбамазепіну, топірамату та депакіну.

Таблиця 1. Поведінка тварин при введенні антиконвульсантів за умов поміщення у «відкрите поле» у контрольній та в основній (n=10) групах щурів

Препарат, доза в мг/кг per os	Показники	Нірки	Квадрати	Сійки	Грумінг	Дефекація
Депакін, 155	M±m % зм. до К	1,2±0,29* -69,23	13,5±1,18* -67,31	4±0,36* -54,02	0,7±0,26 -46,15	0,6±0,16 -40,0
Карбамазепін, 125	M±m % зм. до К	0,9±0,23* -79,92	4,8±0,61* -88,37	0,5±0,16** -61,53	0,3±0,15** -70	0,9±0,23* -89,65
Ламотриджин, 30	M±m % зм. до К	0,7±0,21* -82,05	18,4±1,11* -55,44	0,9±0,37* -72,41	0,9±0,17 -30,76	0,4±0,16* -60
Топірамат, 304	M±m % зм. до К	1,9±0,23** -51,28	14,2±1,09* -65,61	3,1±0,43* -64,36	0,5±0,16** -61,53	1,3±0,97 +30
Габапентин, 100	M±m % зм. до К	2±0,21** -48,71	20,3±0,98* -50,84	2,4±0,30* -72,41	0,6±0,16 -53,84	0,3±0,21** -70
Контроль	M±m	3,9±0,52	41,3±1,72	8,7±0,59	1,3±0,3	1±0,21

Примітка: \* – p<0,001 порівняно з групою контролю; \*\* – p<0,05 порівняно з групою контролю.

Горизонтальна рухова активність, визначена за кількістю перетнутих тваринами протягом тестування периферійних квадратів, при застосуванні карбамазепіну (125 мг/кг) зменшувалась на 88,4 % (p<0,05), порівняно з контролем, при застосуванні топірамату (304 мг/кг) – на 65,61 % (p<0,05), депакіну (155 мг/кг) – на 67,31 %. Найменший вплив на горизонтальну рухову активність мали ламотриджин та габапентин.

Водночас при введенні карбамазепіну показник вертикальної рухової активності, який оціню-

вали за кількістю стійок тварин, коли вони опирались при цьому на бокові стінки, а також коли їх передні кінцівки знаходились у повітрі (без упирання на стінку), також мав чітко виражену тенденцію до зменшення і склав 89,7 % (p<0,05), порівняно з контролем. Введення ламотриджину та габапентину також мало досить негативний вплив на вертикальну рухову активність, знижуючи її показник, порівняно з контролем, на 72,41 % (p<0,05). Аналогічну ситуацію спостерігали і при дослідженні впливу топірамату (304 мг/кг), од-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

нак показник вертикальної рухової активності був менший ніж при використанні карбамазепіну, ламотриджину та габапентину і складав 64,3 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з контролем. Достовірне зменшення кількості переміщень свідчить про виражене зменшення орієнтовної активності й підвищення емоційної напруги тварин. При введенні вальпроату натрію кількість вертикальних стійок зменшилась на 54,0 % ( $p < 0,05$ ), однак це майже у 2 рази менше, ніж при використанні карбамазепіну.

Також дослідження у тесті «відкрите поле» показали, що порівняно з групою контролю при введенні тваринам антиконвульсантів пригнічується нірковий рефлекс: кількість нірок зменшується порівняно, з контролем, при застосуванні 30 мг/кг ламотриджину – на 82,1 % ( $p < 0,05$ ), при застосуванні 125 мг/кг карбамазепіну – на 76,9 % ( $p < 0,05$ ), при застосуванні 155 мг/кг депакіну – на 69,2 % ( $p < 0,05$ ), при застосуванні 304 мг/кг топірамату – на 51,3 % ( $p < 0,05$ ), при застосуванні 100 мг/кг габапентину – на 48,7 % ( $p < 0,05$ ).

Досить суттєво, порівняно з контролем, зменшується кількість умивань ( $p < 0,05$ ) при прийомі карбамазепіну і топірамату – на 61, 5% ( $p < 0,05$ ), що свідчить про зниження комфортності стану тварин, підвищення страху, й відповідно, пригнічення їхнього емоційного стану.

Таблиця 2. Зміни координації руху тварин при введенні антиконвульсантів (с) за даними ротарод-тесту (n=6 у кожній групі порівняння)

Препарат, доза в мг/кг per os	Кількість тварин	Статистичні показники, $M \pm m$
Контроль	6	217,5±10,0
Карбамазепін, 125	6	75,5±6,3*
Ламотриджин, 30	6	197,2±7,2
Топірамат, 304	6	180,3±14,2
Габапентин, 100	6	110,8±9,4*
Депакін, 155	6	183,2±6,1*

Примітка. \* –  $p < 0,05$  порівняно з контрольною групою.

Достовірних відмінностей між контролем і групами введення ламотриджину (197,2±7,2) і топірамату (180,3±14,2) виявлено не було ( $p > 0,05$ ).

Ознакою нейротоксичного впливу препарату можна вважати неможливість тварини утримуватись на стрижні. За результатами проведених досліджень не виявлено відхилень у щурів дослідних груп, яким вводили ламотриджин (30 мг/кг) per os і топірамат (304 мг/кг) per os, тобто введення цих препаратів за оптимальною схемою не викликає нейротоксичного ефекту, не погіршує координацію рухів.

Отже, найбільший нейротоксичний ефект серед досліджуваних препаратів за даними ротарод-тесту мають карбамазепін (125 мг/кг) та габапентин (100 мг/кг).

Прийом антиконвульсантів призводить також до зниження, порівняно з групою контролю, актів дефекації – на 70 % ( $p < 0,05$ ) при використанні карбамазепіну і габапентину та на 60 % в разі застосування ламотриджину. Виражене достовірне зниження кількості болюсів свідчить про негативний вплив препаратів, в більшій мірі карбамазепіну та габапентину, на емоційний стан щурів, підвищення в них страху й стресу у дослідженні.

Порівнюючи зміни орієнтовно-дослідницької реакції тварин у тесті «відкрите поле» за збільшенням пригнічення емоційно-рухової активності ми можемо розташувати досліджувані препарати у такий ряд: габапентин < депакін < топірамат < ламотриджин < карбамазепін.

При вивченні впливу досліджуваних препаратів на координацію рухів виявлено, що у групі контролю (n=6) латентний період падіння зі стрижня склав (217,5±10,0) с (табл. 2). У ході досліджень встановлено, що після введення карбамазепіну (125 мг/кг) латентний час падіння у ротарод-тесті, порівняно з групою контролю, зменшився на 65,28 % ( $p < 0,05$ ). Менш потужною, але також суттєвою дією на координацію рухів характеризується використання габапентину (100 мг/кг), показник середнього латентного часу при його застосуванні зменшився на 49,1 % ( $p < 0,05$ ).

**Висновки.** Вивчення побічних ефектів досліджуваних антиконвульсантів показало, що найнегативніший вплив на вертикальну та горизонтальну рухову активність мав карбамазепін, який за своїм механізмом дії посилює ГАМК-ергічні процеси та взаємодію з центральними аденозиновими рецепторами. Введення вказаного препарату призводило до зниження горизонтальної активності на 88,4 % ( $p < 0,05$ ) та вертикальної – на 89,7 % ( $p < 0,05$ ). Карбамазепін мав також значний вплив і на локомоторну функцію, при його застосуванні латентний час падіння у ротарод-тесті, порівняно з групою контролю, зменшився на 65,28 % ( $p < 0,05$ ). Габапентин, який подібний до нейротрансмітера ГАМК, але механізм дії якого відрізняється від інших засобів, які взаємодіють

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

з ГАМК-рецепторами, мав найменший вплив на горизонтальну рухову активність. Однак він показав досить негативний вплив на локомоторну функцію тварин, знижуючи показник середнього латентного часу, порівняно з контролем, на 49,1 % ( $p < 0,05$ ). Слід також зазначити, що ламотриджин, як блокатор вивільнення глутамату, теж мав найменший вплив на горизонтальну рухову активність, знижуючи її на 55,4 % ( $p < 0,05$ ). Виявлено також, що депакін, який за своїми властивостями стимулює ГАМК-ергічні механізми за рахунок інгібування ферменту ГАМК-трансферази, найменше впливав на вертикальну рухову активність. Топірамат, механізм дії якого полягає в інгібуванні глута-

матних рецепторів та в активації ГАМК-рецепторів, мав менший негативний вплив на горизонтальну рухову активність, ніж депакін і карбамазепін, та на вертикальну рухову активність, ніж карбамазепін, ламотриджин і габапентин. Отже, антиконвульсанти з переважною ГАМК-ергічною дією мали більшу пригнічувальну дію на координацію рухів та поведінкові реакції у тварин.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому при дослідженні впливу антиконвульсантів з різним механізмом дії на молекулярно-біохімічні показники доцільно розробити критерії прогнозування й оцінки безпечності протисудомної терапії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Aldenkamp A. P. Newer antiepileptic drugs and cognitive issues / A. P. Aldenkamp, M. D. Krom, R. Reijns // *Epilepsia*. – 2003. – № 44 (4). – P. 21–29.
2. Гехт А. Б. Оценка качества жизни больных с эпилепсией / А. Б. Гехт : IX конгресс «Человек и Лекарство». – М., 2002.
3. Броди М. Течение и рациональная терапия эпилепсии / М. Броди // *Международ. неврол. журнал*. – 2005. – № 4. – С. 72–83.
4. Lundberg S. Rolandic epilepsy: a challenge in terminology and classification / S. Lundberg, O. Eeg-Olofsson // *European Journal of Paediatric Neurology*. – 2003. – № (7). – P. 239–241.
5. Treatment of interictal epileptiform discharges can improve behavior in children with behavioral problems and epilepsy / R. Pressler, R. Robinson, G. Wilson, C. Binnie // *J. Pediatr*. – 2005. – № 146. – P. 112–117.
6. Effects of gabapentin and topiramate in primary rat astrocyte cultures / V. Cardile, A. Pavone, M. Renis [et al.] // *Neuroreport*. – 2001. – № 12. – P. 1705–1708.
7. Effect of lamotrigine, oxcarbazepine and topiramate on cognitive functions and oxidative stress in PTZ-

kindled mice / N. B. Agarwal, N. K. Agarwal, P. K. Mediratta, K. K. Sharma // *Seizure*. – 2011. – № 20(3). – P. 257–262.

8. Effects of conventional anticonvulsant drugs on generalized tonic-clonic seizures in Noda epileptic rats / M. Inoue, A. Yamamoto, Y. Kaneko [et al.] // *Epilepsy Res*. – 2014. – № 108 (7). – P. 1158–1167.

9. Luo Z. The effects of antiepileptic drug valproic acid on apoptosis of hippocampal neurons in epileptic rats / Z. Luo, Y. Fang, L. Zhang // *Pak J. Pharm. Sci*. – 2015. – № 28 (1 Suppl). – P. 319–324.

10. Abuladze G. The study of emotionality in rats and mice in behavioral and pharmacological experiments, the method of «open field» // *G. Abuladze Biology*. – 1983. – № 9 (3). – P. 156–165.

11. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – С. 175–188, 119–122.

12. Dunham N. W. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice / N. W. Dunham, T. S. Miya // *J. Amer. Pharm. Assoc. Sci. Ed*. – 1957. – № 46. – P. 208–209.

## COMPARISON OF THE INFLUENCE OF ANTICONVULSANTS WITH GABA AND GLUTAMATERGIC ACTION ON THE BEHAVIORAL RESPONSES AND LOCOMOTOR FUNCTION IN RATS IN AN EXPERIMENT

©N. P. Shastun, V. I. Opryshko

*Dnipropetrovsk State Medical Academy*

**SUMMARY.** In the experimental study on nonlinear white rats, the effect of anticonvulsants with different mechanisms of influence on the behavioral responses and coordination of movements of animals was studied. Intra-gastric administration of Carbamazepine (125 mg/kg) reduced horizontal (by 88.4 %) and vertical (by 89.7 %) motor activities. Carbamazepine had the greatest negative impact on locomotor function as well, the latent time decrease of which was reduced in rotorod-test by 65.28 %. The least negative effect on the horizontal locomotor activity provided gabapentin (100 mg/kg). The study revealed that lamotrigine (30 mg/kg) as a blocker of glutamate release, as well as topiramate (30 mg/kg) also had the least impact on horizontal locomotor activity, reducing it to 55.4 % and 65.61 % respectively. Thus, anticonvulsants with predominantly GABAergic action had a more depressing effect on the coordination of movements and behavioral responses in animals.

**KEY WORDS:** anticonvulsants, behavioral responses, GABA, glutamate.

Отримано 14.10.2015