

Сравнение эффектов и электрофизиологических механизмов действия вальпроевой кислоты и леветирацетама на экспериментальной модели очаговой эпилепсии

С.А. Литвинова¹, Г.Г. Авакян², Т.А. Воронина¹, И.О. Гайдуков¹, Л.Н. Неробкова¹, И.С. Кутепова¹, Г.Н. Авакян²

¹ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Несмотря на бурное развитие рынка противоэпилептических фармацевтических препаратов, около 2/3 больных эпилепсией не получают адекватного лечения, что отчасти обусловлено многообразием механизмов развития эпилептических приступов.

Цель исследования. Сравнительное изучение электрофизиологических механизмов действия и эффектов вальпроевой кислоты (Депакин хроно) и леветирацетама (Левитинол) в условиях экспериментальной фокальной эпилепсии и эпилептического статуса (ЭпиСт) у крыс.

Материалы и методы. Фокальную хроническую эпилепсию вызывали с помощью аппликации кобальта в зону сенсомоторной коры. На 7–8-е сутки путем введения гомоцистеина моделировали ЭпиСт, провоцируя развитие вторично-генерализованных тонико-клонических судорог.

Результаты. Леветирацетам оказывал подавляющее влияние на пароксизмальную активность мозга крыс только в условиях развившегося стабильного ЭпиСт на 5–6-е сутки после аппликации кобальта. Его максимально выраженный эффект проявлялся в гиппокампе и характеризовался значительным снижением эпилептической активности (ЭпиА) в данной структуре и появлением регулярного θ -ритма. Вальпроевая кислота значительно подавляла ЭпиА в ипсилатеральной коре, гиппокампе и гипоталамусе на двух стадиях развития ЭпиСт, оказывая наиболее выраженный эффект на первичный корковый очаг и гипоталамус. На модели ЭпиСт, вызванного введением гомоцистеина, леветирацетам был неэффективен, тогда как вальпроевая кислота снижала выраженность пароксизмальной активности во всех исследуемых структурах, особенно в коре (ипси- и контрлатеральной – в 33 раза) и гипоталамусе (в 28 раз), что сопровождалось подавлением генерализованных моторных проявлений и снижением гибели животных.

Заключение. На модели фокальной кобальт-индуцированной эпилепсии лидирующей структурой – мишенью воздействия леветирацетама – является гиппокамп, тогда как эффект вальпроевой кислоты проявляется через ингибирующее влияние на корковые очаги ЭпиА и гипоталамус, что, возможно, является определяющим в его способности подавлять ЭпиСт.

Ключевые слова: леветирацетам, вальпроевая кислота, эпилепсия, эпилептический статус, электроэнцефалография, пароксизмальная активность, кобальт-индуцированная эпилепсия, крысы.

Адрес для корреспонденции: 125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, ФГБНУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова. E-mail: sa_litvinova@mail.ru. Литвинова С.А.

Для цитирования: Литвинова С.А., Авакян Г.Г., Воронина Т.А., Гайдуков И.О., Неробкова Л.Н., Кутепова И.С., Авакян Г.Н. Сравнение эффектов и электрофизиологических механизмов действия вальпроевой кислоты и леветирацетама на экспериментальной модели очаговой эпилепсии. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2018; 12(3): 45–53.

DOI: 10.25692/ACEN.2018.3.6

Comparison of effects and electrophysiological mechanisms of action of valproic acid and levetiracetam in an experimental model of focal epilepsy

Svetlana A. Litvinova¹, Georgii G. Avakyan², Tatyana A. Voronina¹, Igor O. Gaidukov¹, Lyubov' N. Nerobkova¹, Inga S. Kutepova¹, Gagik N. Avakyan¹

¹Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia; ²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Introduction. Despite rapid development of the antiepileptic pharmaceuticals market, about 2/3 of patients suffering from epilepsy do not receive adequate treatment, which is partly due to the variety of mechanisms for the development of epileptic seizures.

Objective. A comparative study of the electrophysiological mechanisms of action and effects of valproic acid (Depakin Chrono) and levetiracetam (Levetinol) under experimental focal epilepsy and status epilepticus (SE) in rats.

Materials and methods. Focal chronic epilepsy was caused by the application of cobalt to the sensorimotor cortex. On the 7th–8th day, SE was modeled by the injection of homocysteine, which provoked the development of secondary generalized tonic-clonic seizures.

Results. Levetiracetam had a suppressing effect on the paroxysmal activity of the rat brain only under conditions of a stable SE on the 5th–6th day after the application of cobalt. Its most prominent effect was seen in the hippocampus and was characterized by a significant decrease in epileptic activity (EpiA) in this structure and in the maintenance of a regular rhythm. Valproic acid significantly suppressed EpiA in the ipsilateral cortex, hippocampus and hypothalamus at a stable stage of EpiS development, with the most pronounced effect on the primary cortical focus and hypothalamus. In the model of SE caused by the injection of homocysteine, levetiracetam was ineffective, whereas valproic acid decreased the severity of paroxysmal activity in all the studied structures, especially in the cortex (ipsi- and contralateral, 33 times) and hypothalamus (28 times), which was accompanied by suppression of generalized motor manifestations and reduced number of animal deaths.

Conclusion. In the model of focal cobalt-induced epilepsy, the hippocampus is the leading structure and the target of the levetiracetam action, while the effect of valproic acid is executed through the inhibitory effect on the cortical foci of EpiA and the hypothalamus, which may be main feature in its ability to suppress the SE.

Keywords: levetiracetam, valproic acid, epilepsy, status epilepticus, electroencephalography, paroxysmal activity, cobalt-induced epilepsy, rats.

For correspondence: 125315, Russia, Moscow, Baltiiskaya str., 8, V.V. Zakusov State Research Institute of Pharmacology. E-mail: sa_litvinova@mail.ru. Litvinova S.A.

For citation: Litvinova S.A., Avakyan G.G., Voronina T.A., Gaidukov I.O., Nerobkova L.N., Kutepova I.S., Avakyan G.N. [Comparison of the effects and electrophysiological mechanisms of action of valproic acid and levetiracetam in an experimental model of focal epilepsy]. *Annals of clinical and experimental neurology*. 2018; 12(3): 45–53. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2018.3.6

Введение

В России только по официальной статистике зарегистрировано более 300 тыс. человек, страдающих эпилепсией [1]. Это заболевание сопровождается высоким риском инвалидизации, снижением качества жизни и социальной адаптации. Серьезными проблемами во всех возрастных группах являются вопросы подбора эффективной терапии и удержания на ней. По данным последнего десятилетия, около 2/3 больных эпилепсией не получают адекватного лечения, несмотря на бурное развитие рынка противоэпилептических фармацевтических препаратов. По статистическим данным, в последнее время 30% пациентов с эпилепсией в России достигают ремиссии, при этом, по данным ВОЗ, достичь ее могут 70% пациентов [2].

Широкое применение вальпроевой кислоты (ВК) в практической медицине на протяжении полувека основано на ряде ее уникальных свойств. Вальпроаты (вальпроат натрия, энкорат, ацедиол, конвулекс, депакин, депакин хроно) эффективны в отношении всего спектра эпилептических приступов и форм эпилепсии: идиопатических (генерализованных/фокальных), криптогенных/симптоматических, недифференцированных у пациентов различных возрастных групп, включая эпилептические энцефалопатии [3]. Механизм действия ВК мультитаргетный, включает блокаду Ca^{2+} -каналов и препятствие экс-айтотоксической гибели нейронов. ВК регулирует нейротрансмиссию, регулирует нейротрофические факторы и апоптоз. Главным звеном в нейробиохимическом механизме действия вальпроатов является их влияние на метаболизм ГАМК – основного центрального тормозного нейромедиатора. Вальпроаты являются ингибиторами фермента ГАМК-трансаминазы, обуславливающего ферментативный распад и инактивацию ГАМК. Их применение приводит к стабилизации эндогенной ГАМК и повышению ее содержания в тканях мозга. Кроме того, ВК может уменьшать длительные повторяющиеся высокочастотные разряды путем блокирования Na^{+} -вольтажзависимых каналов [4] или активации Ca^{2+} -зависимой K^{+} -проводимости. ВК уменьшает выброс γ -оксибутирата, что приводит к увеличению уровня возбуждающей кислоты аспартата в мозге

мышей и уменьшению экспрессии транспортера глутамата-1 в гиппокампе крыс [5]. Таким образом, вальпроаты, благодаря уникальным свойствам, остаются препаратами первой линии при лечении эпилепсии, в том числе в качестве препарата выбора во всех случаях неклассифицируемых приступов и труднокурабельных форм парциальной эпилепсии.

В последнее десятилетие в клиническую практику эпилепсии вошел новый противоэпилептический препарат 3-го поколения леветирацетам (ЛЕВ): кеппра, эпитерра лонг, левитинол. ЛЕВ применяется как препарат первой линии терапии парциальных приступов с вторичной генерализацией или без нее, в комбинированной терапии при лечении ювенильной миоклонической эпилепсии, первично-генерализованных тонико-клонических судорог с идиопатической генерализованной эпилепсией, но он неэффективен при абсансных и миоклонических приступах. Механизм действия ЛЕВ проявляется в опосредованном связывании с везикулярным синаптическим протеином SV2A [6–9]. Между средством к этому белку и противосудорожной активностью выявлена тесная взаимосвязь на разных экспериментальных моделях эпилепсии, включая генетические модели, аудиогенные судороги, модели киндлинга. ЛЕВ ингибирует высвобождение Ca^{2+} из депо и ингибирует активность AMPA-рецепторов, таким образом модулируя активность нейронов [10–12]. ЛЕВ умеренно ингибирует Ca^{2+} -каналы N-типа, снижает ингибирующее действие Zn^{2+} на ГАМК- и глицинзависимые токи [13], избирательно воздействует на ГАМК_A-рецепторы в условиях развитой эпилептической системы, устраняя ингибирующий эффект Zn^{2+} , и не влияет при этом на ГАМК_A-рецепторы в условиях нормы [6, 14–18]. Эта способность ингибировать внезапную вспышку возбуждения, не затрагивая нормальное нейронное возбуждение, а также влияние на везикулярный белок SV2A отличают ЛЕВ от других противоэпилептических препаратов.

Целью настоящего исследования явилось сравнение электрофизиологических механизмов действия и эффектов ВК и ЛЕВ в условиях экспериментальной фокальной эпилепсии и эпилептического статуса (ЭпиСт).

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 36 самцах аутобредных половозрелых белых крыс массой 220–250 г, полученных из питомника «Столбовая» и содержащихся в условиях лабораторного вивария при 12-часовом световом режиме со свободным доступом к воде и стандартному корму в соответствии с СП 2.2.1.3218-14¹. Организация и проведение экспериментальных работ осуществлялись в соответствии с приказом Минздрава России № 199² и одобрены Комиссией по биомедицинской этике НИИ фармакологии им. В.В. Закусова. Для исключения влияния суточных биоритмов эксперименты проводили между 10 ч и 13 ч дня.

Эпилептогенный очаг создавали аппликацией порошка металлического кобальта на поверхность двигательной области коры левого полушария мозга крыс по следующим координатам: 1 мм вперед от брегмы и 1 мм в сторону от сагиттального шва. С этой целью в кости черепа просверливали трепанационное отверстие, в которое вводили стеклянную канюлю с порошком кобальта (диаметр канюли соответствовал диаметру отверстия и не превышал 1 мм). Канюлю опускали на поверхность коры (твердую мозговую оболочку предварительно вскрывали тонкой инъекционной иглой). Эта методика позволяет смоделировать парциальные (фокальные) и вторично-генерализованные судороги в хроническом эксперименте, широко используется для изучения механизмов действия противосудорожных веществ в России и за рубежом [19–24] и рекомендована НЦЭпиСтМП Минздравсоцразвития России [25]. Долгосрочные электроды вживляли в структуры мозга крыс (двигательная зона коры левого и правого полушарий, дорсальный отдел гиппокампа, латеральные ядра гипоталамуса) с помощью стереотаксического прибора по координатам атласа мозга крыс [26] под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг). Индифферентный электрод, используемый при монополярной записи, помещали в носовой кости черепа.

Провокацию ЭпиСт осуществляли по описанной ранее методике [24, 27]. На 7–8-е сутки после аппликации кобальта крысам со стойкими изменениями биоэлектрической активности в структурах мозга внутрибрюшинно вводили гомотеина тиалактон (ГМЦ) («Sigma») в дозе 5,5 ммоль/кг, разведенной в 3,5 мл/кг физиологического раствора непосредственно перед использованием.

Для регистрации биопотенциалов мозга использовали 21-канальный аппаратно-программный комплекс для топографического картирования электрической активности мозга «Нейро-КМ» (Россия) с установленными фильтрами на 32 Гц и постоянной времени 0,3. Компьютерный анализ электроэнцефалограммы (ЭЭГ) осуществляли с помощью программы «BrainSys». Программный комплекс выполнял следующие функции: ввод в компьютер многоканальной ЭЭГ и ее визуальное редактирование, включающее фильтрацию (использовался полосовой фильтр в интервале частот 32–1,5 Гц), выделение артефактов и их устранение из анализируемого отрезка ЭЭГ; статистическую обработку полученных результатов. Запись электрической активности производили в условиях свободного передвижения животного по экспериментальной камере.

¹ СП 2.2.1.3218-14 от 29.08.2014 № 51 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

² Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

При изучении противосудорожной активности препаратов на кобальтовой модели эпилепсии для каждой крысы до (фон) и через 60 мин после введения препаратов вычисляли показатели биоэлектрической активности головного мозга за 1 мин: число пароксизмальных разрядов и их общую длительность. На модели ЭпиСт показатели биоэлектрической активности регистрировали в течение 5 ч. В электрограммах каждой структуры анализировали интервал не менее 5–10 мин. Исходя из показателей биоэлектрической активности исследуемых структур головного мозга каждой крысы вычисляли средние показатели для группы с последующей обработкой по отдельным временным интервалам для каждой структуры.

Влияние производного ВК (депакин хроно, «Санофи Винтроп Индустрия») и ЛЕВ (левитинол, «Герофарм») на развитие ЭпиСт, вызванного аппликацией кобальта на сенсомоторную кору мозга, исследовали на стадии формирования первичного и вторичного эпилептогенных очагов – через 24–48 ч (I стадия) после операции и на стадии сформированного ЭпиСт, характеризующейся генерализованной эпилептической активностью (ЭпиА) со стабильным уровнем синхронизированных пароксизмальных разрядов, – на 5–6-е сутки после аппликации кобальта (II стадия). ЛЕВ в дозе 200 мг/кг вводили внутрибрюшинно (в/б) однократно через 48 ч ($n=6$) и однократно на 5–6-е сутки ($n=6$); ВК в дозе 30 мг/кг вводили в/б на протяжении развития ЭпиСт – в течение 6 сут ($n=6$).

При провокации ЭпиСт, вызванного введением ГМЦ, через 30 мин после введения нейротоксина однократно вводили ЛЕВ в дозе 200 мг/кг в/б ($n=6$) или ВК в дозе 100 мг/кг в/б ($n=6$); 6 крыс препараты не получали.

Результаты

Развитие ЭпиСт после аппликации кобальта сопровождалось постепенным нарастанием ЭпиА и изменением доминантных структур генерации разрядов. Анализ биоэлектрической активности в структурах мозга крыс (ипсиплатеральная кора, гипоталамус, гиппокамп) на I стадии развития ЭпиСт выявил образование очагов ЭпиА во всех исследуемых структурах с наибольшими числом и продолжительностью разрядов в ипсилатеральной коре и гиппокампе. Отмечено значительное опережение в возникновении ЭпиА в ипсилатеральной коре, что может свидетельствовать о формировании детерминантной (ведущей) структуры ЭпиА на I стадии развития ЭпиСт. ЭпиА в латеральном гипоталамусе и контрлатеральной коре была менее выражена.

На II стадии развития ЭпиСт по мере распространения ЭпиА формировались вторичные «зеркальные» и подкорковые эпилептические очаги. У крыс до получения препаратов (фон) формировался вторичный доминантный очаг в гиппокампе: увеличивалось число разрядов и их длительность в этой структуре, а также отмечена высокая разрядная активность в контрлатеральной коре. На II стадии развития ЭпиСт опережение в возникновении ЭпиА отмечено в контрлатеральной коре и гипоталамусе, что свидетельствует об изменении детерминантной структуры относительно I стадии (табл. 1). В итоге к 5–6-м суткам во всех исследуемых структурах мозга развился стойкий ЭпиСт с генерализованной ЭпиА. При сравнении спектров мощности всего диапазона волн показано, что на II стадии ЭпиСт по сравнению с I стадией статистически достоверно усили-

Таблица 1. Число и длительность разрядов ЭпиА у крыс на разных стадиях кобальтовой эпилепсии
Table 1. The number and duration of EpiA convulsions in rats at different stages of cobalt epilepsy

Структура мозга / Brain Structure	I стадия / Stage I		II стадия / Stage II	
	число разрядов за 1 мин / number of convulsions per minute	продолжительность разрядов, с / duration of convulsions, sec	число разрядов за 1 мин / number of convulsions per minute	продолжительность разрядов, с / duration of convulsions, sec
Кора ипсилатеральная / Ipsilateral cortex	16,7±0,6	3,0±0,1	15,2±1,8	2,6±0,3
Кора контрлатеральная / Contralateral cortex	15,2±1,1	2,4±0,4	20,4±1,6*	3±0,3
Гиппокамп ипсилатеральный / Ipsilateral hippocampus	18,4±1,0	2,5±0,2	22±1,3*	2,6±0,2
Гипоталамус ипсилатеральный / Ipsilateral hipotalamus	16,2±1,7	2,1±0,3	17,2±1,7	2,4±0,2

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с I стадией (критерий Стьюдента)
Note: * $p < 0.05$ compared to stage I (Student's test)

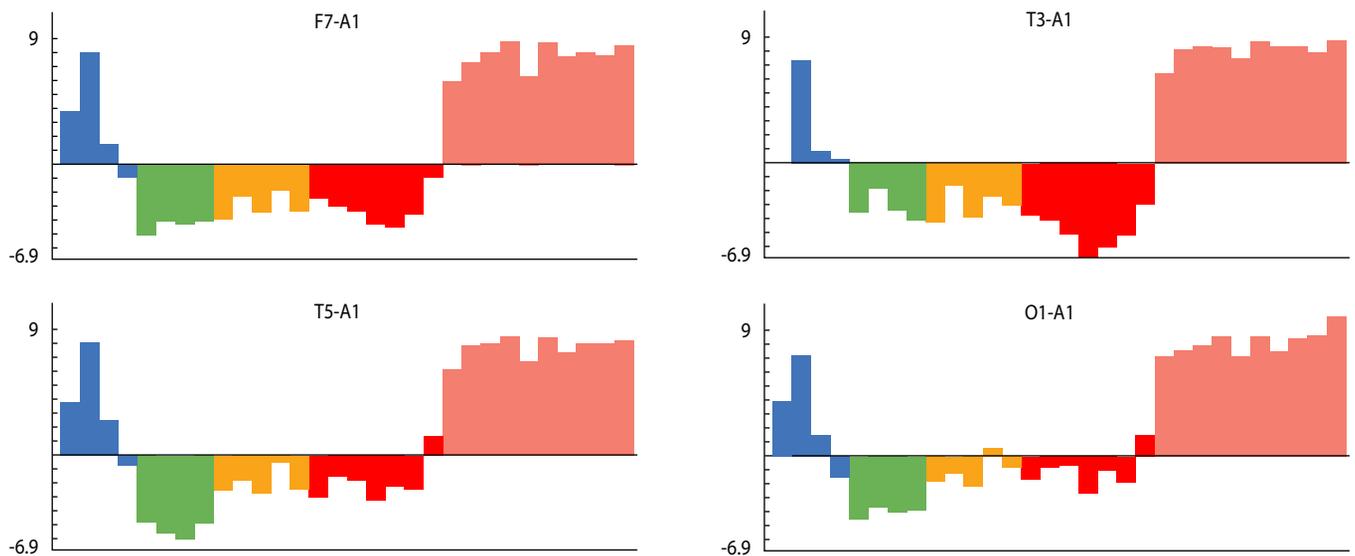


Рис. 1. Изменение спектров мощности в исследуемых структурах мозга II стадии развития ЭпиСт по сравнению с I стадией
F7-A1 – ипсилатеральная кора; T3-A1 – контрлатеральная кора; T5-A1 – гипоталамус; O1-A1 – гиппокамп. Синие столбики – θ -волны, зеленые – низкочастотные θ -волны, оранжевые – высокочастотные θ -волны, красные – низкочастотные β -волны, коралловые – высокочастотные β -волны. Оси ординат – изменение активности спектра волн относительно значений I стадии ЭпиСт, взятых за 100%, посчитанных по критерию t Стьюдента ($p < 0,05$ при $t > 2$; $p < 0,01$ при $t > 2,6$)

Fig. 1. The change of spectral power in the studied structures of the brain in the stage II of SE development in comparison with the stage I of SE
F7-A1 – ipsilateral cortex; T3-A1 – contralateral cortex; T5-A1 – hypothalamus; O1-A1 – hippocampus. Blue bars – θ -waves; green bars – low-frequency θ -waves; orange bars – high-frequency θ -waves; red bars – low-frequency β -waves; coral bars – high-frequency β -waves. The ordinate axes: the change in the activity of the wave spectrum relative to the values of the I stage of the SE, taken as 100%, calculated according to the Student's test ($p < 0.05$ for $t > 2$; $p < 0.01$ for $t > 2.6$)

вается спектральная мощность δ -ритма и высокочастотной β -активности при одновременном снижении θ -ритма и низкочастотной β -активности во всех исследуемых структурах (рис. 1).

На I стадии развития ЭпиСт ЛЕВ снижал число ($p \leq 0,08$) и длительность разрядов ЭпиА ($p \leq 0,07$) в ипсилатеральной коре – доминантном первичном очаге (рис. 2). В остальных исследуемых структурах мозга значимых изменений выраженности ЭпиА при введении ЛЕВ не наблюдалось. На II стадии развития ЭпиСт при введении ЛЕВ разрядная ЭпиА снижалась во всех исследуемых структурах мозга. Наиболее

выраженное действие ЛЕВ оказывал на гиппокамп, максимально снижая в данной структуре проявления разрядной ЭпиА (число разрядов – в 1,9 раза и их длительность – в 2,5 раза). В остальных структурах подавление генерализованной пароксизмальной активности было одинаковым. Кроме того, спектральный анализ ЭЭГ-записи крыс, получивших ЛЕВ, показал снижение δ -активности и появление регулярного θ -ритма с преобладанием его в гиппокампе, что является показателем нормализации биоэлектрической активности мозга крыс с кобальтовой эпилепсией на 5–6-е сутки развития ЭпиСт. Таким образом, ЛЕВ практически не влияет на I стадию развития ЭпиСт, оказывая лишь сла-

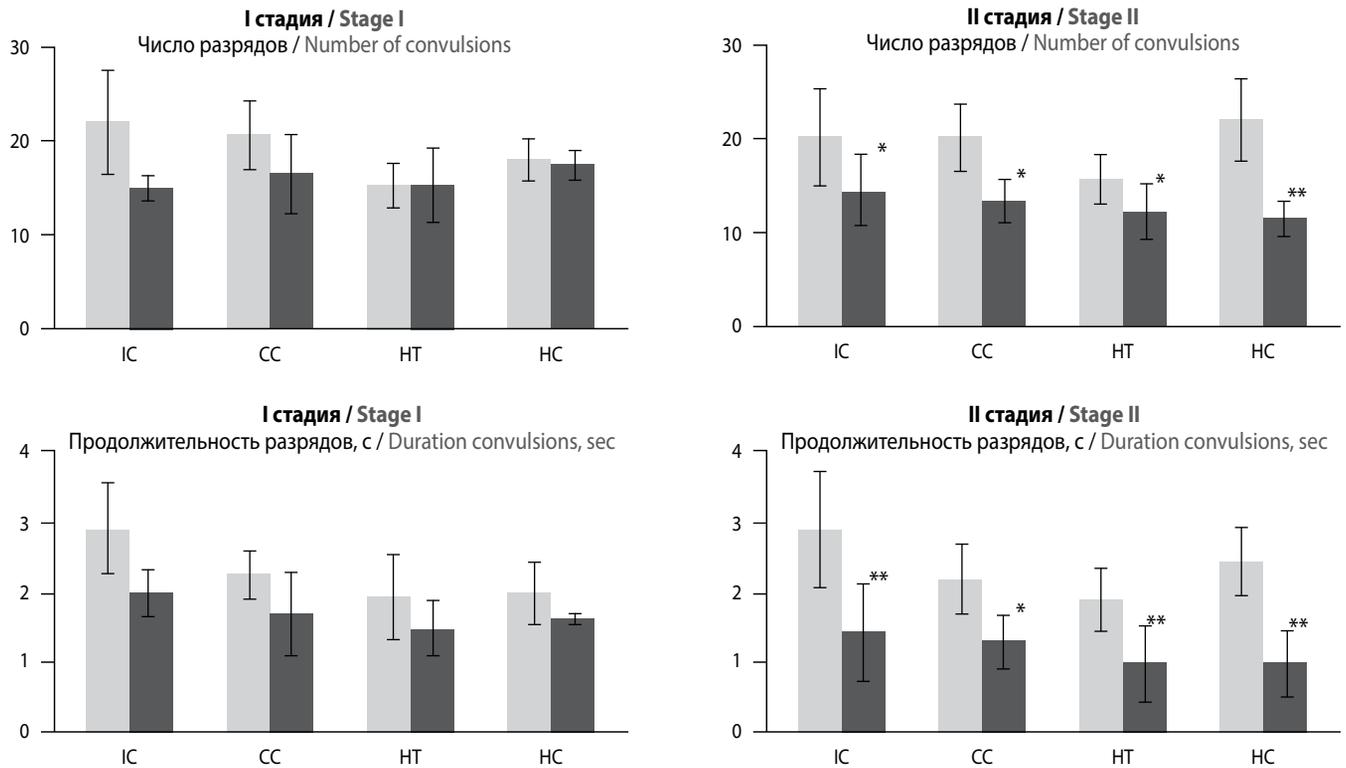


Рис. 2. Влияние ЛЕВ (200 мг/кг; темные столбики) на число и продолжительность судорожных разрядов в структурах мозга крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом на I и II стадиях формирования ЭпиСт. Здесь и на рис. 3, 4: IC – ипсилатеральная кора; CC – контрлатеральная кора; HT – гипоталамус; HC – гиппокамп. Светлые столбики – контроль. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ по сравнению с контролем (критерий Стьюдента)

Fig. 2. The effect of levetiracetam (200 mg/kg, dark bars) regarding the number and duration of convulsive discharges in brain structures of rats with cobalt-induced epileptogenic focus in I and II stages of SE formation. Here and in figs. 3, 4: IC – ipsilateral cortex; CC – contralateral cortex; HT – hypothalamus; HC – hippocampus. Light bars – control. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ compared with the control (Student's test)

бое воздействие на ипсилатеральную кору, и значительно подавляет ЭпиА на II стадии развития ЭпиСт с преимущественным воздействием на гиппокамп (рис. 2).

На 2–3-и сутки формирования кобальтового эпилептогенного очага введение ВК приводило к заметному сокращению числа и длительности разрядов ЭпиА в ипсилатеральной коре и гипоталамусе. Число разрядов и их длительность в гиппокампе были сопоставимы с данными показателями 1-х суток. Анализ временных характеристик ЭпиА показал, что раньше всего разряды возникают в электрокортикограммах ипсилатеральной коры, что свидетельствует о ведущей роли данной структуры в развитии ЭпиА в этот период (рис. 3).

К 5–6-м суткам развития ЭпиСт сохранялась ведущая роль ипсилатеральной коры в возникновении ЭпиА, регистрируемая по времени их возникновения, в то время как число и длительность разрядов превалировали в контрлатеральной коре. ВК в данный период вызывал значительное уменьшение числа разрядов во всех исследуемых структурах. Наиболее резистентным к действию препарата оказался очаг ЭпиА в сенсомоторной области коры контрлатерального полушария. Анализ временных характеристик возникновения ЭпиА показал, что под влиянием ВК в дозе 30 мг/кг на протяжении всего эксперимента (с 1-х по 6-е сутки развития ЭпиСт) отмечалось запаздывание в возникновении ЭпиА в электрограммах гипоталамуса по сравнению с корой и гиппокампом (рис. 3).

В течение 30 мин после введения ГМЦ ЭпиА во всех исследуемых структурах резко усиливалась: число разрядов повышалось в 2–3 раза. Длительность разрядов ЭпиА увеличивалась постепенно, вплоть до появления высокоамплитудных продолжительных (10–15 с) повторяющихся разрядов, которые сопровождалась вторично-генерализованными тонико-клоническими судорогами. Среди моторно-поведенческих реакций выделялись фокальные подергивания, сложные моторные комплексные движения – генерализованные клонические судороги с потерей рефлекса переворачивания. По окончании приступов более 50% животных погибали. Анализ временных характеристик ЭпиА показал синхронность возникновения приступов ЭпиА во всех структурах с незначительным преобладанием гипоталамуса (рис. 4).

Динамика изменения судорожной ЭпиА после введения ВК (100 мг/кг) линейно зависела от времени введения препарата. Через 50 мин после введения ВК во всех исследуемых структурах достоверно снижалась только продолжительность разрядов, тогда как уменьшение числа разрядов наблюдалось только в гиппокампе. Значительное статистически значимое подавление ЭпиА (числа и продолжительности разрядов) относительно фоновых значений с ГМЦ отмечено через 3 ч после введения препарата с максимальным эффектом в гипоталамусе (в 28 раз) и контрлатеральной коре (в 27 раз). Наряду со снижением пароксизмальной активности после введения ВК моторные проявления ЭпиСт подавлялись

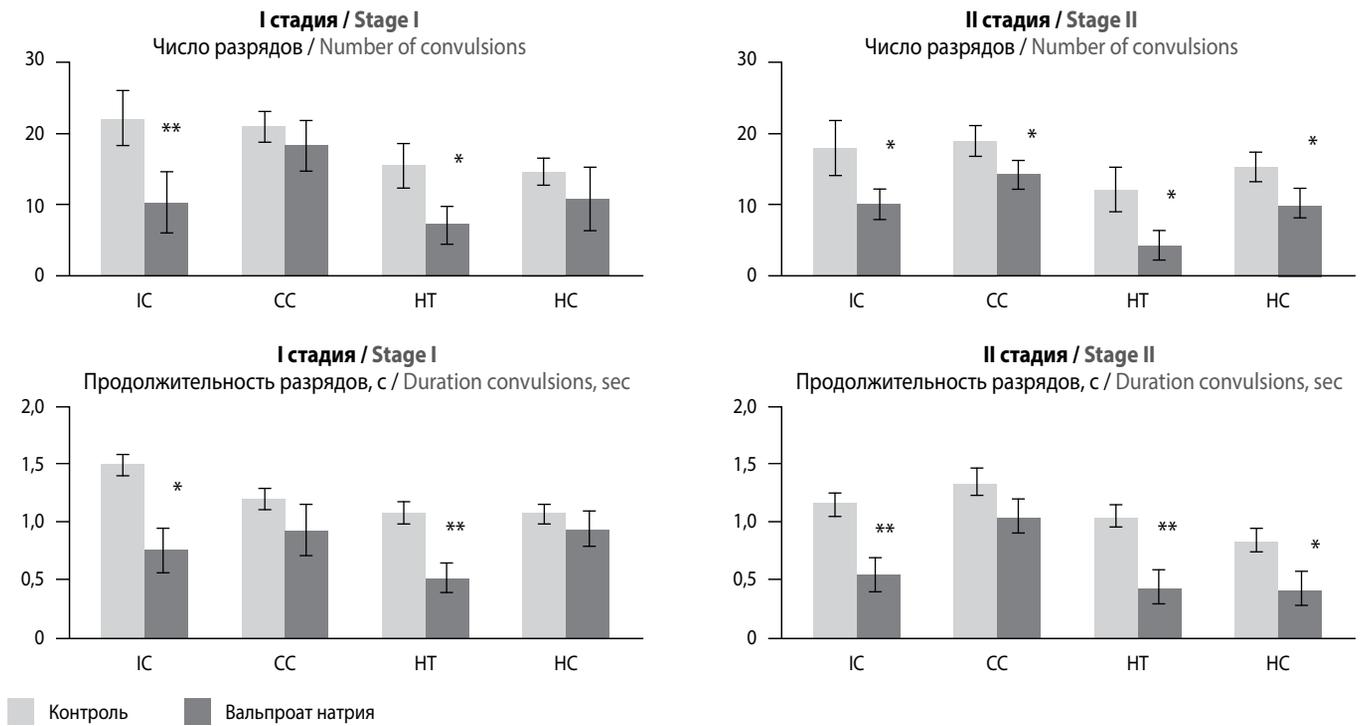


Рис. 3. Влияние ВК (30 мг/кг; темные столбики) на число и продолжительность судорожных разрядов в структурах мозга крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом на I и II стадиях формирования ЭпиСт

Fig. 3. Effect of valproic acid (30 mg/kg, dark bars) regarding the number and duration of convulsive discharges in brain structures of rats with cobalt-induced epileptogenic focus in stages I and II of SE formation

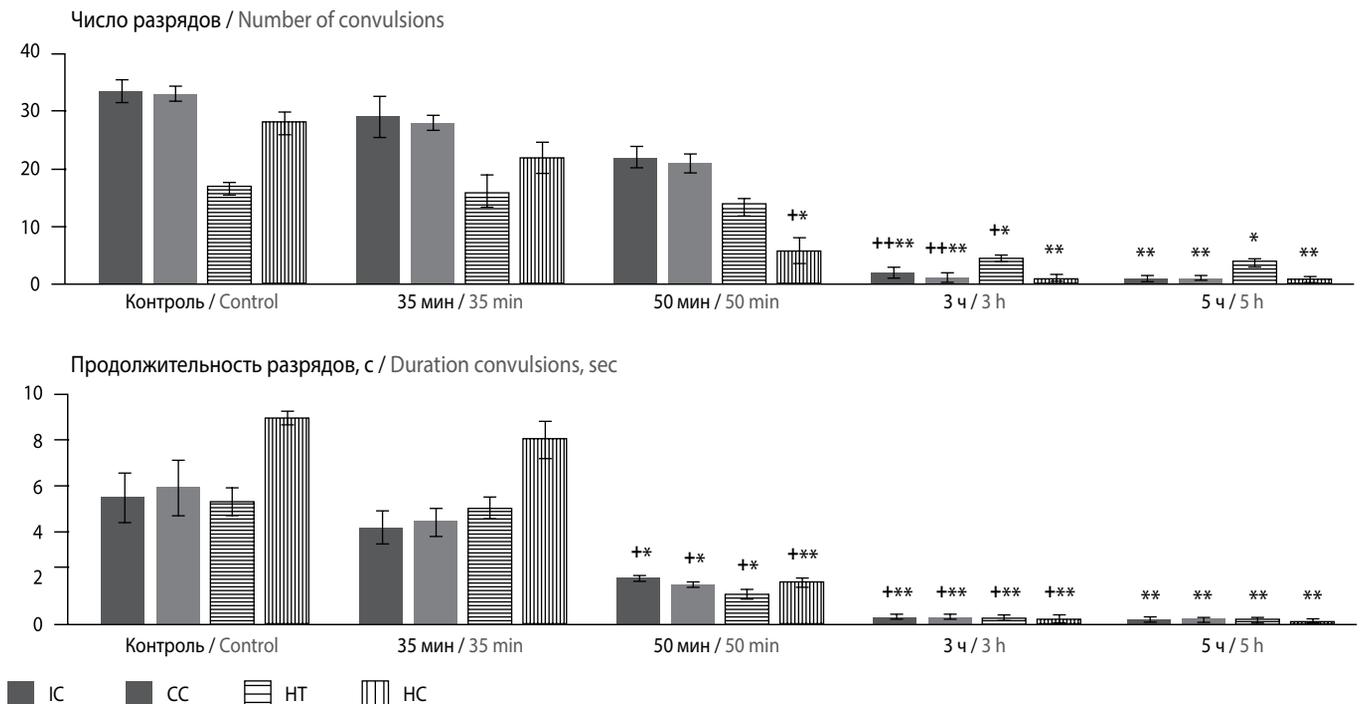


Рис. 4. Влияние ВК в дозе 100 мг/кг на количество и продолжительность судорожных разрядов ЭпиА в электрограммах структур мозга крыс с ГМЦ-индуцированным ЭпиСт.

* $p < 0,05$ по сравнению с предыдущим интервалом (критерий Стьюдента)

Fig. 4. The effect of valproic acid in a dose of 100 mg/kg regarding the number and duration of convulsive discharges of EpiA in the electrograms of brain structures of rats with homocysteine-induced SE.

* $p < 0.05$ compared to the previous interval (Student's test)

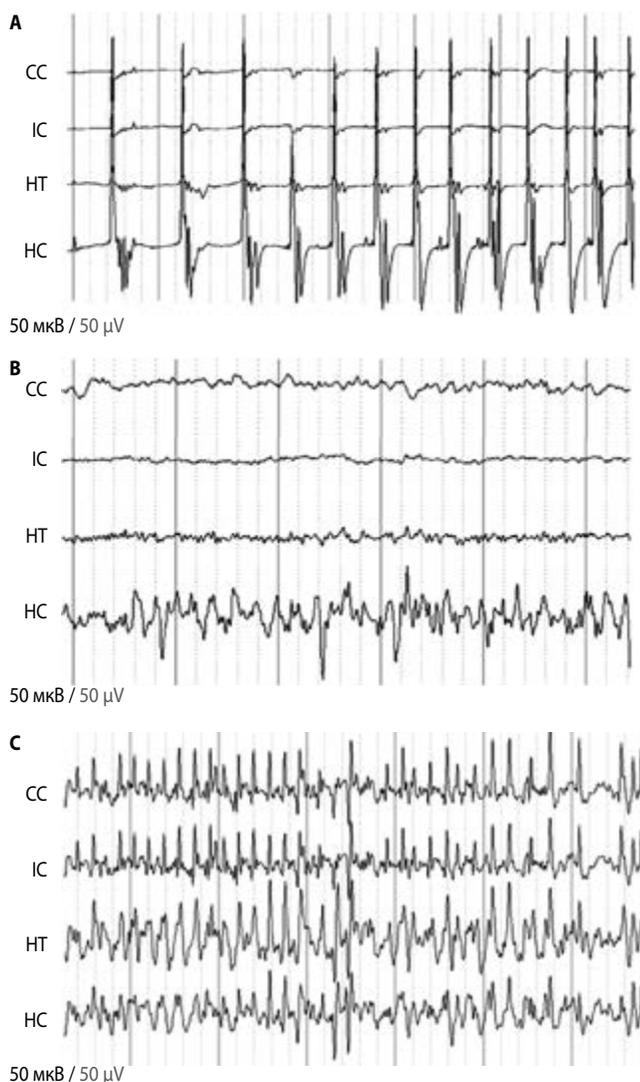


Рис. 5. Электрограммы структур мозга крыс с ЭпиСт, индуцированным ГМЦ, до (А) и после введения ВК (В) и ЛЕВ (С)

Fig. 5. Electrograms of brain structures of rats with homocysteine-induced SE before (A) and after administration of valproic acid (B) and levetiracetam (C)

у 71% животных. Через 5 ч после введения ВК в контралатеральной коре происходило еще большее подавление ЭпиА относительно фоновых значений с ГМЦ – снижение числа разрядов в 33 раза. Однако в гиппокампе ВК снижала число разрядов только в 4 раза, оказывая таким образом наименьшее влияние на данную структуру (рис. 4, 5).

ЛЕВ (200 мг/кг) на фоне развившегося ЭпиСт, вызванного введением ГМЦ, не приводил к снижению разрядной

ЭпиА и не уменьшал выраженность моторных проявлений. На электрограммах всех исследуемых структур регистрировались синхронные билатеральные разряды медленных волн с заостренными вершинами (рис. 5).

Обсуждение

Исследования влияния ВК и ЛЕВ на эпилептиформную активность крыс с кобальт-индуцированным очагом позволили установить значительные различия в подавлении ЭпиА на разных стадиях формирования ЭпиСт. ЛЕВ, согласно современным представлениям о механизме его действия, оказывал подавляющее влияние на пароксизмальную активность мозга крыс только в условиях развившегося ЭпиСт. Эффект его в максимальной выраженной степени проявился на II стадии развития ЭпиСт в гиппокампе, что выражалось в значительном снижении ЭпиА в данной структуре и появлении регулярного θ -ритма. ВК (30 мг/кг) значительно уменьшала ЭпиА в ипсилатеральной коре, гиппокампе и гипоталамусе как на I, так и на II стадии развития ЭпиСт. Наиболее выраженный эффект ВК оказывала на первичный корковый очаг, подавляя число и продолжительность разрядов ЭпиА. На II стадии развития ЭпиСт ВК значительно снижала выраженность судорожной активности в гипоталамусе. Наименьшее влияние ВК оказывала на очаг ЭпиА в сенсомоторной области коры контралатерального полушария.

При моделировании ЭпиСт с помощью введения ГМЦ крысам с кобальт-индуцированным очагом наибольшее количество разрядов ЭПА отмечено в ипси- и контралатеральной коре, а их наибольшая длительность – в электрограммах гипоталамуса, что свидетельствует о значительной роли гипоталамуса в развитии ЭпиСт [28]. На фоне развернутого ЭпиСт ЛЕВ (200 мг/кг) был неэффективен, он не устранял проявления пароксизмальной активности и не защищал от гибели животных, тогда как ВК (100 мг/кг) снижала выраженность пароксизмальной активности во всех исследуемых структурах, особенно в коре (ипси- и контралатеральной – в 33 раза) и гипоталамусе (в 28 раз), что сопровождалось подавлением генерализованных моторных проявлений и уменьшением гибели животных.

Таким образом, на модели фокальной кобальт-индуцированной эпилепсии показано, что лидирующей структурой-мишенью ЛЕВ (леветинола) является гиппокамп – одна из ведущих структур эпилептической системы, что, по-видимому, определяет его эффективность при резистентных судорожных состояниях. В то время как эффект ВК (депакина хроно) проявляется через ингибирующее влияние на корковые очаги эпилептической активности и гипоталамус, что, возможно, является определяющим в ее способности подавлять эпилептический статус.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare there is no conflict of interest.*

Список литературы

1. Белоусов Ю.Б., Белоусов Д.Ю., Чикина Е.С. и др. Исследование медико-социальных проблем эпилепсии в России. *Качественная клиническая практика* 2004; 4(Спец. выпуск): 89.
2. WHO. Global burden of epilepsy and the need for coordinated action at the country level to address its health. Social and public knowledge implications. 2 February 2015.
3. Карлов В.А. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин. М.; 2010; 720 с.
4. Vreugdenhil M., Wadman W.J. Modulation of sodium currents in rat CA1 neurons by carbamazepine and valproate after kindling epileptogenesis. *Epilepsia* 1999; 40: 1512–1522. PMID: 10565577.
5. Ueda Y., Willmore L.J. Molecular regulation of glutamate and GABA transporter proteins by valproic acid in rat hippocampus during epileptogenesis. *Exp Brain Res* 2000; 133: 334–339. PMID: 10958523
6. Wakita M., Kotani N., Kogure K., Akaike N. Inhibition of excitatory synaptic transmission in hippocampal neurons by levetiracetam involves Zn²⁺-dependent GABA type A receptor-mediated presynaptic modulation. *J Pharmacol Exp Ther* 2014; 348: 246–259. PMID: 24259680.
7. Gillard M., Fuks B., Michel P. et al. Binding characteristics of [3H]ucb 30889 to levetiracetam binding sites in rat brain. *Eur J Pharmacol.* 2003; 478: 1–910.1016. PMID: 14555178.
8. Gillard M., Chatelain P., Fuks B. Binding characteristics of levetiracetam to synaptic vesicle protein 2A (SV2A) in human brain and in CHO cells expressing the human recombinant protein. *Eur J Pharmacol.* 2006; 536:102–810. DOI: 10.1016/j.ejphar.2006.02.022. PMID: 16556440.
9. Lynch B.A., Lambeng N., Nocka K., Kensel-Hammes P. et al. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 9861–9866. DOI: 10.1073/pnas.0308208101. PMID: 15210974.
10. Angehagen M., Margineanu D.G., Ben-Menachem E. et al. Levetiracetam reduces caffeine-induced Ca²⁺ transients and epileptiform potentials in hippocampal neurons. *Neuroreport.* 2003; 14: 471–475 DOI: 10.1097/01.wnr.0000059774.23521.b7. PMID: 12634506.
11. Carunchio I., Pieri M., Ciotti M.T. et al. Modulation of AMPA receptors in cultured cortical neurons induced by the antiepileptic drug levetiracetam. *Epilepsia.* 2007; 48: 654–662. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2006.00973.x. PMID: 17284293.
12. Cataldi M., Lariccia V., Secondo A. et al. The antiepileptic drug levetiracetam decreases the inositol 1,4,5-trisphosphate-dependent [Ca²⁺] increase induced by ATP and bradykinin in PC12 cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005; 313: 720–730. DOI: 10.1124/jpet.104.079327. PMID: 15644427.
13. Klitgaard H. Levetiracetam: the preclinical profile of a new class of antiepileptic drugs? *Epilepsia* 2001; 42: 13–18. PMID: 11564119.
14. Palma E., Ragozzino D., Di Angelantonio S. et al. The antiepileptic drug levetiracetam stabilizes the human epileptic GABA receptors upon repetitive activation. *Epilepsia.* 2007; 48: 1842–1849. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01131.x. PMID: 17521347.
15. Rigo J.M., Hans G., Nguyen L. et al. The anti-epileptic drug levetiracetam reverses the inhibition by negative allosteric modulators of neuronal GABA- and glycine-gated currents. *Br J Pharmacol.* 2002; 136: 659–672. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704766. PMID: 12086975.
16. Wakita M., Kotani N., Kogure K., Akaike N. Inhibition of excitatory synaptic transmission in hippocampal neurons by levetiracetam involves Zn²⁺-dependent GABA type A receptor-mediated presynaptic modulation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014; 348: 246–259. DOI: 10.1124/jpet.113.208751. PMID: 24259680.
17. Margineanu D.G., Wulfert E. ucb L059, a novel anticonvulsant, reduces bicuculline-induced hyperexcitability in rat hippocampal CA3 *in vivo*. *Eur J Pharmacol* 1995; 286: 321–325. PMID: 8608796.
18. Birnstiel S., Wulfert E., Beck S.G. Levetiracetam (ucb LO59) affects *in vitro* models of epilepsy in CA3 pyramidal neurons without altering normal synaptic transmission. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1997; 356: 611–618. PMID: 9402041.
19. Авакян Г.Н., Неробкова Л.Н., Воронина Т.А. и др. Влияние карбамазепина на структурно функциональные связи в развитии эпилептической системы. *Экспериментальная и клиническая фармакология* 2002; 2: 7–10.
20. Bregman F., Le Saux S., Trottier P. et al. Chronic cobalt-induced epilepsy: noradrenaline ionophoresis and adrenoceptor binding studies in the rat cerebral cortex. *J. Neural Transmission.* 1985; 63: 109–118.
21. Воронина Т.А., Стойко М.И., Неробкова Л.Н. и др. Анализ влияния фенитоина на распространение судорог и эпилептический статус, вызванный нейротоксином гомоцистеином тиолактоном у крыс с кобальтовой эпилепсией. *Экспериментальная и клиническая фармакология* 2002; 65(1): 15–18.
22. Walton N.Y., Treiman D.M. Efficacy of ACC-9653 (a phenytoin prodrug) in experimental status epilepticus in the rat. *Epilepsy Res* 1990; 5: 165–168. PMID: 2328717.
23. Walton N.Y., Treiman D.M. Valproic acid treatment of experimental status epilepticus. *Epilepsy Res* 1992; 12: 199–205. PMID: 1396545.
24. Walton N.Y., Jaing Q., Hyun B., Treiman D.M. Lamotrigine vs. phenytoin for treatment of status epilepticus: comparison in an experimental model. *Epilepsy Res* 1996; 24: 19–28. PMID: 8800632.

References

1. Belousov Yu.B., Belousov D.Yu., Chikina E.S. [Research of medical and social problems of epilepsy in Russia]. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika* 2004; 4 (Special Issue): 89. (In Russ.)
2. WHO. Global burden of epilepsy and the need for coordinated action at the country level to address its health. Social and public knowledge implications. 2 February 2015.
3. Karlov V.A. *Epilepsiya u detei i vzroslykh zhenshchin i muzhchin* [Epilepsy in children and adult women and men]. Moscow; 2010; 720 p. (In Russ.)
4. Vreugdenhil M., Wadman W.J. Modulation of sodium currents in rat CA1 neurons by carbamazepine and valproate after kindling epileptogenesis. *Epilepsia* 1999; 40: 1512–1522. PMID: 10565577.
5. Ueda Y., Willmore L.J. Molecular regulation of glutamate and GABA transporter proteins by valproic acid in rat hippocampus during epileptogenesis. *Exp Brain Res* 2000; 133: 334–339. PMID: 10958523
6. Wakita M., Kotani N., Kogure K., Akaike N. Inhibition of excitatory synaptic transmission in hippocampal neurons by levetiracetam involves Zn²⁺-dependent GABA type A receptor-mediated presynaptic modulation. *J Pharmacol Exp Ther* 2014; 348: 246–259. PMID: 24259680.
7. Gillard M., Fuks B., Michel P. et al. Binding characteristics of [3H]ucb 30889 to levetiracetam binding sites in rat brain. *Eur J Pharmacol.* 2003; 478: 1–910.1016. PMID: 14555178.
8. Gillard M., Chatelain P., Fuks B. Binding characteristics of levetiracetam to synaptic vesicle protein 2A (SV2A) in human brain and in CHO cells expressing the human recombinant protein. *Eur J Pharmacol.* 2006; 536: 102–810. DOI: 10.1016/j.ejphar.2006.02.022. PMID: 16556440.
9. Lynch B.A., Lambeng N., Nocka K., Kensel-Hammes P. et al. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 9861–9866. DOI: 10.1073/pnas.0308208101. PMID: 15210974.
10. Angehagen M., Margineanu D.G., Ben-Menachem E. et al. Levetiracetam reduces caffeine-induced Ca²⁺ transients and epileptiform potentials in hippocampal neurons. *Neuroreport.* 2003; 14: 471–475 DOI: 10.1097/01.wnr.0000059774.23521.b7. PMID: 12634506.
11. Carunchio I., Pieri M., Ciotti M.T. et al. Modulation of AMPA receptors in cultured cortical neurons induced by the antiepileptic drug levetiracetam. *Epilepsia.* 2007; 48: 654–662. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2006.00973.x. PMID: 17284293.
12. Cataldi M., Lariccia V., Secondo A. et al. The antiepileptic drug levetiracetam decreases the inositol 1,4,5-trisphosphate-dependent [Ca²⁺] increase induced by ATP and bradykinin in PC12 cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005; 313: 720–730. DOI: 10.1124/jpet.104.079327. PMID: 15644427.
13. Klitgaard H. Levetiracetam: the preclinical profile of a new class of antiepileptic drugs? *Epilepsia* 2001; 42: 13–18. PMID: 11564119.
14. Palma E., Ragozzino D., Di Angelantonio S. et al. The antiepileptic drug levetiracetam stabilizes the human epileptic GABA receptors upon repetitive activation. *Epilepsia.* 2007; 48: 1842–1849. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01131.x. PMID: 17521347.
15. Rigo J.M., Hans G., Nguyen L. et al. The anti-epileptic drug levetiracetam reverses the inhibition by negative allosteric modulators of neuronal GABA- and glycine-gated currents. *Br J Pharmacol.* 2002; 136: 659–672. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704766. PMID: 12086975.
16. Wakita M., Kotani N., Kogure K., Akaike N. Inhibition of excitatory synaptic transmission in hippocampal neurons by levetiracetam involves Zn²⁺-dependent GABA type A receptor-mediated presynaptic modulation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014; 348: 246–259. DOI: 10.1124/jpet.113.208751. PMID: 24259680.
17. Margineanu D.G., Wulfert E. ucb L059, a novel anticonvulsant, reduces bicuculline-induced hyperexcitability in rat hippocampal CA3 *in vivo*. *Eur J Pharmacol* 1995; 286: 321–325. PMID: 8608796.
18. Birnstiel S., Wulfert E., Beck S.G. Levetiracetam (ucb LO59) affects *in vitro* models of epilepsy in CA3 pyramidal neurons without altering normal synaptic transmission. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1997; 356: 611–618. PMID: 9402041.
19. Avakyan G.N., Nerobkova L.N., Voronina T.A. et al. [Effect of carbamazepine on structurally functional connections in the development of the epileptic system]. *Eksp Klin Farmakol* 2002; 2: 7–10. (In Russ.)
20. Bregman F., Le Saux S., Trottier P. et al. Chronic cobalt-induced epilepsy: noradrenaline ionophoresis and adrenoceptor binding studies in the rat cerebral cortex. *J. Neural Transmission.* 1985; 63: 109–118.
21. Voronina T.A., Stoiko M.I., Nerobkova L.N. et al. [Investigation of the effect of fenitoin on the development of homoecysteine induced convulsions and epileptic status in rats with cobalt-induced epilepsy]. *Eksp Klin Farmakol* 2002; 65: 15–18. (In Russ.)
22. Walton N.Y., Treiman D.M. Efficacy of ACC-9653 (a phenytoin prodrug) in experimental status epilepticus in the rat. *Epilepsy Res* 1990; 5: 165–168. PMID: 2328717.
23. Walton N.Y., Treiman D.M. Valproic acid treatment of experimental status epilepticus. *Epilepsy Res* 1992; 12: 199–205. PMID: 1396545.
24. Walton N.Y., Jaing Q., Hyun B., Treiman D.M. Lamotrigine vs. phenytoin for treatment of status epilepticus: comparison in an experimental model. *Epilepsy Res* 1996; 24: 19–28. PMID: 8800632.

25. Воронина Т.А., Неробкова Л. Н. *Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ*. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.; 2012: 235–250.
26. Буреш Дж., Петрань М., Захар Д. Электрофизиологические методы исследования в биологии. М.; 1964: 551.
27. Walton N.Y., Treiman D.M. Experimental secondarily generalized convulsive status epilepticus induced by D, L-homocysteine thiolactone. *Epilepsy Res* 1988; 2: 79–86. PMID: 3197690.
28. Авакян Г.Г. Клинико-нейрофизиологическое изучение комбинаций новых форм антиконвульсантов и антиоксиданта у больных эпилепсией с вторично-генерализованными приступами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2011.

25. Voronina T.A., Nerobkova L.N. *Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu protivosudorozhnoy aktivnosti farmakologicheskikh veshchestv*. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Methodical instructions on the study of anticonvulsant activity of pharmacological substances. A guide to preclinical drug research]. Moscow; 2012: 235–250. (In Russ.)
26. Buresh J., Petran M., Zahar D. *Elektrofiziologicheskiye metody issledovaniya v biologii* [Electrophysiological methods of research in biology]. Moscow; 1964: 551. (In Russ.)
27. Walton N.Y., Treiman D.M. Experimental secondarily generalized convulsive status epilepticus induced by D, L-homocysteine thiolactone. *Epilepsy Res* 1988; 2: 79–86. PMID: 3197690.
28. Avakyan G.G. [Clinico-neurophysiological study of combinations of new forms of anticonvulsant and antioxidant in patients with epilepsy with secondary generalized attacks: Author's Abstract of PhD Thesis]. Moscow; 2011. (In Russ.)

Информация об авторах: Литвинова Светлана Александровна – к.б.н., в.н.с. лаб. психофармакологии НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия;
Авакян Георгий Гагикович – к.м.н., асс. каф. неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;
Воронина Татьяна Александровна – д.м.н., проф., рук. лаб. психофармакологии НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия;
Гайдуков Игорь Олегович – асп. НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия;
Неробкова Любовь Николаевна – к.б.н., с.н.с. лаб. психофармакологии НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия;
Кутепова Инга Сергеевна – асп. НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия;
Авакян Гагик Норайрович – д.м.н., проф. каф. неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия.

Information about the authors: Svetlana A. Litvinova, PhD, leading researcher, Laboratory of psychopharmacology, Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia;
Georgii G. Avakyan, PhD, Department of neurology, neurosurgery and medical genetics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;
Tat'yana A. Voronina, D. Sci. (Med.), Prof., head of the Laboratory of psychopharmacology, Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia;
Igor' O. Gaydukov, PhD student, Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia;
Lyubov' N. Nerobkova, PhD, senior researcher, Laboratory of psychopharmacology, Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia;
Inga S. Kutepova, PhD student, Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia;
Gagik N. Avakyan, D. Sci. (Med.), Prof., Department of neurology, neurosurgery and medical genetics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia.