

ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА И ДИАЗЕПАМА НА ЭПИЛЕПТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

Одесский государственный медицинский университет

Ранее было установлено, что бактериальный липополисахарид (ЛПС) обеспечивает в раннем периоде своего действия (4 ч с момента применения в дозе 0,1 мг/кг, внутривенно (в/вр)) сокращение латентного периода генерализованных судорог, индуцированных введением натриевой соли бензилпенициллина (3,0 млн МЕ/кг, в/вр) на 32,8 %, а также увеличение их тяжести на 29,3 % у крыс линии Вистар [1; 2]. В то же время, в отдаленном периоде — через 18 ч с момента применения ЛПС, латентный период пенициллин-индуцированных судорог увеличивался на 58,6 %, а их тяжесть уменьшалась вдвое. При этом на электроэнцефалограмме отмечалась редукция синхронизированной активности дельта- и альфа-диапазона, сочетающаяся с увеличением мощности активности тета-диапазона, наиболее выраженном в образованиях гиппокампа, а также возрастанием мощности бета- и гамма-ритмов.

Таким образом, ЛПС в отдаленном периоде действия оказывает эффект подавления эпилептогенного возбуждения. По-видимому, в основе данного эффекта может находиться восстановление ГАМК-ергического тормозного контроля, нарушаемого под влиянием натриевой соли бензилпенициллина [5]. Ранее было установлено, что препараты, увеличивающие тонус ГАМК-ергических механизмов мозга, потенцируют противосудорожные эффекты бензодиазепинов [3].

Поэтому задачей настоящего исследования явилось определение особенностей динамики активности эпилептических очагов, создаваемых у крыс во фронтальных отделах коры головного мозга, в условиях раздельного и сочетанного применения ЛПС и диазепама. Дополнительной задачей исследования стало изучение данных эффектов у крыс с коразоловым киндлингом в отсроченном периоде его развития, что позволяет воспроизводить фармакологическую устойчивость экспериментального судорожного синдрома [3].

Материалы и методы исследования

Наблюдения проведены в условиях острого эксперимента на крысах-самцах линии Вистар массой тела 180–250 г.

Киндлинг у крыс вызывали с помощью ежедневных введений коразола в подпороговой (25,0–30,0 мг/кг, в/вр) дозе. Всего проводилось 21 введение эпилептогена, после чего в наблюдении использовали только тех животных, у которых на протяжении последних трех инъекций отмечалось формирование генерализованных клонико-тонических судорожных приступов. При этом данных животных исследовали по истечении трехнедельного периода отсутствия применения коразола, что позволяет моделировать фармакологически устойчивый эпилептический синдром [3].

Крысам под кетаминовым наркозом (100,0 мг/кг, в/вр) и в условиях фиксации в стерео-

таксическом аппарате СЭЖ-5 экспонировали фронтальные отделы коры головного мозга обоих полушарий, где располагали активный электрод. Индифферентный электрод фиксировали в носовых костях черепа. Через 30 мин животным вводили d-тубокурарин («Орион», Финляндия, 0,15 мг/кг, внутривенно (в/в)) и переводили на искусственное дыхание. Места рассечения тканей головы и точки сдавления инфильтрировали раствором новокаина (0,25 %).

Электрическую активность структур мозга регистрировали через 1,5 ч с момента оперативного вмешательства с помощью компьютерной системы «DX-5000» («Научно-производственное объединение DX-системы», Харьков, Украина). При этом частота опроса каналов составила 256 имп/с, данные визуализировались на экране, их записывали на жесткий диск для последующей off-line обработки, которую проводили с помощью программы «Matlab 7.0». Частотный диапазон сигналов составил 0,5–40 Гц.

Очаги эпилептической активности (ЭПА) создавали путем аппликации на поверхность коры мозга кусочков фильтровальной бумаги, смоченной в свежеприготовленном растворе натриевой соли бензилпенициллина (30 000 МЕ/мл) [3].

Бактериальный ЛПС «Пирогенал» (НИИ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, РФ) вводили в дозе 0,1 мг/кг, в/вр [1; 2; 4]. Диазепам («Гедеон Рихтер», Венгрия) применяли в дозах 0,1

и 0,5 мг/кг, в/бр. Животным контрольной группы в аналогичных условиях применяли 0,9%-й физиологический раствор NaCl.

Выраженность очаговой ЭПА оценивали по частотно-амплитудным характеристикам, показателю мощности эпилептогенного возбуждения, а также общей продолжительности существования очагов [3].

Статистическую обработку результатов исследований (латентный период и мощность биоэлектрической активности) проводили с применением метода one-way ANOVA и критерия Newman — Keuls. Тяжесть судорог оценивали с помощью критерия Kruscal — Wallis.

Результаты исследования и их обсуждение

Создание очагов ЭПА на фоне предварительного применения ЛПС показало, что через 30 мин с момента достижения максимальной мощности очагов частота генерирования разрядов в них была на 17,6 % меньше, чем в группе контроля (отдаленный период киндлинга в отсутствие применения ЛПС; $P < 0,05$; рис. 1, а). При

этом данный показатель составлял в экспериментальной группе ($18,7 \pm 2,4$) разряда в минуту. В течение последующих 30 мин непрерывного наблюдения частота генерирования разрядов в очагах у крыс с применением ЛПС была достоверно меньше, чем в группе контроля, в то время как в группе животных, которым тестирование эффектов осуществляли через 24 ч с момента применения ЛПС, различия с группой контроля отсутствовали в течение всего периода наблюдения (см. рис. 1, а). В группе животных, которым наблюдение проводили через 12–14 ч с момента введения ЛПС, также регистрировалась тенденция к снижению амплитуды эпилептических разрядов, которая на 50-й минуте с момента достижения разрядами в очаге максимальной амплитуды и частоты была меньше, нежели в группе контроля, на 17,9 % ($P < 0,05$). Различия между группами сохранялись до конца наблюдения (рис. 1, б). При этом у животных с тестированием эффектов через 24 ч с момента применения ЛПС различия с контролем отсутствовали (см. рис. 1, б).

В задачу следующей части исследований вошло изучение характеристик динамики мощности пенициллин-индуцированных очагов в условиях применения диазепама в различных дозах (0,1 и 0,5 мг/кг) у крыс в отдаленном периоде коразол-индуцированного киндлинга. При этом препарат вводили в период достижения максимальных по амплитуде и частоте разрядов в очагах (5–10 мин с момента их возникновения в зоне нанесения эпилептогена).

Введение диазепама в дозе 0,1 мг/кг, в/бр не вызывало изменений исследуемых показателей в сравнении с таковыми в группе контроля (рис. 2). В то же время, под влиянием диазепама в дозе 0,5 мг/кг, в/бр на 30-й минуте с момента применения препарата отмечалось достоверное снижение частоты генерирования спайковых разрядов в очагах — на 28,9 % в сравнении с соответствующим показателем в группе контроля ($P < 0,05$; см. рис. 2, а). Дальнейшее непрерывное наблюдение в течение 30 мин выявило сохранение достоверных различий между группами, которое на

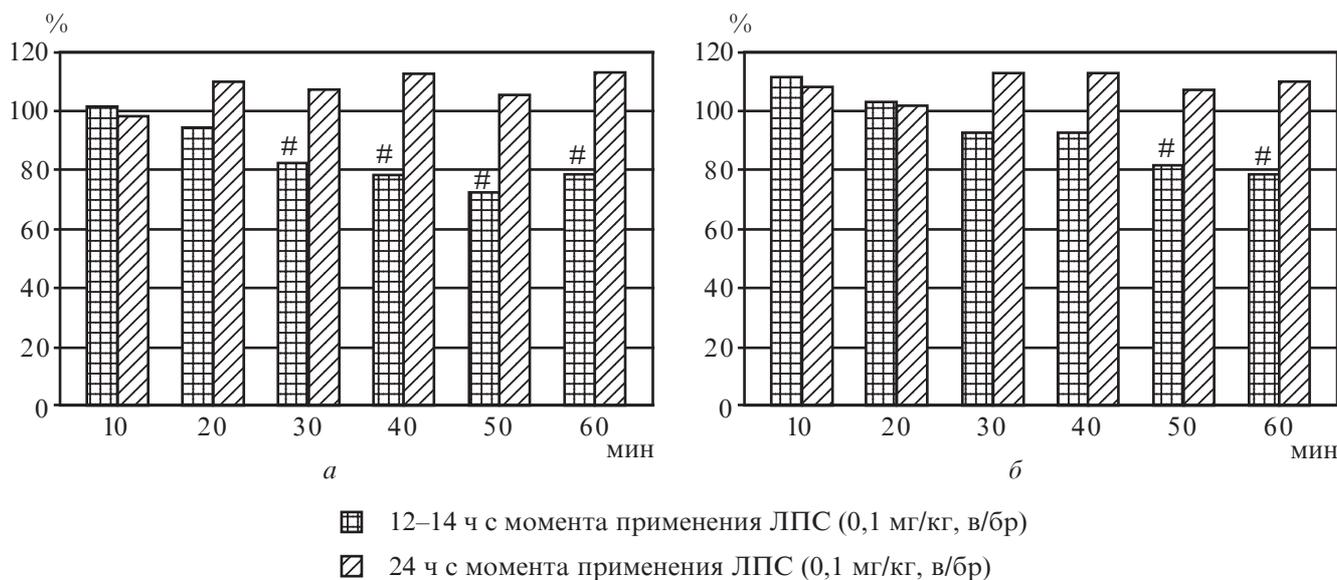


Рис. 1. Динамика частоты (а) и амплитуды (б) пенициллин-индуцированных очагов эпилептической активности в коре головного мозга интактных крыс в условиях воздействия липополисахарида: по оси абсцисс — время с момента появления устойчивой ЭПА (минуты); по оси ординат — исследуемые показатели (в процентах) по отношению к таковым в группе контроля, принятым за 100 %. На рис. 1–4: # — $P < 0,05$ в сравнении с показателем в группе контроля

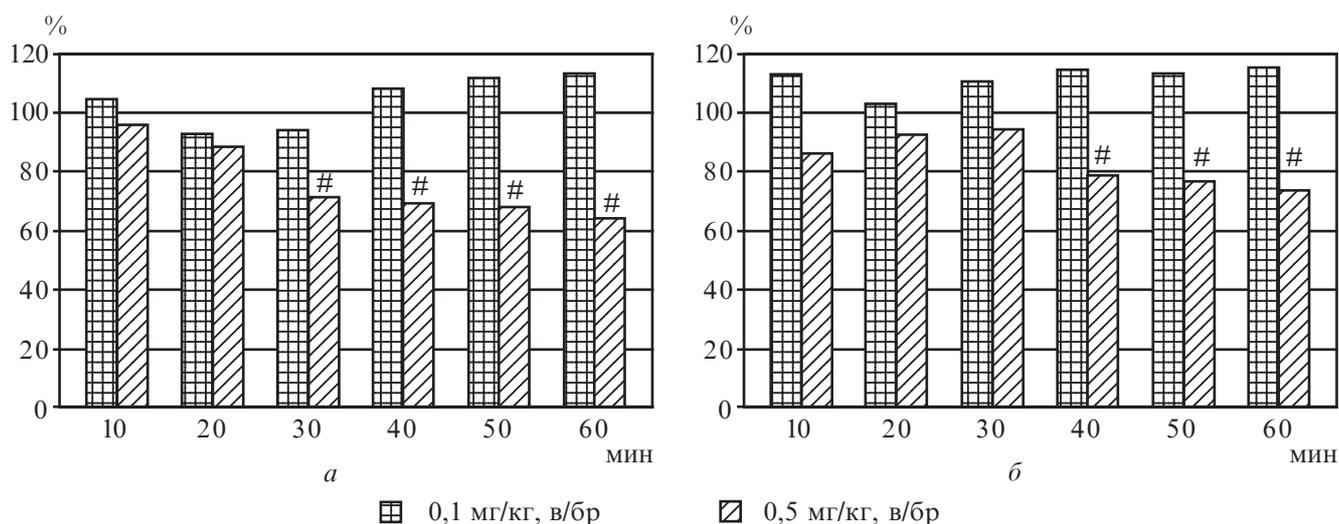


Рис. 2. Динамика частоты (а) и амплитуды (б) пенициллин-индуцированных очагов эпилептической активности в коре головного мозга крыс в отдаленном периоде коразолового киндинга в условиях воздействия диазепама: по оси абсцисс — время с момента введения диазепама (минуты); по оси ординат — исследуемые показатели (в процентах) по отношению к таковым в группе контроля, принятым за 100 %

60-й минуте составило 34,9 % ($P < 0,05$; см. рис. 2, а).

Также в указанной дозе диазепам обеспечивал снижение амплитуды разрядов в сравнении с таковой в группе контроля на 20,0 %, что отмечалось на 40-й минуте с момента применения препарата ($P < 0,05$; см. рис. 2, б). Достоверные различия между группами сохранялись до конца наблюдения и на 60-й минуте они составляли 24,3 % ($P < 0,05$; см. рис. 2, б).

Задачей следующей серии экспериментальных исследований явилось изучение эффектов диазепама на фоне предварительного применения ЛПС (0,1 мг/кг, в/бр за 12–14 и 24 ч до наблюдения) на показатели амплитуды и частоты эпилептических разрядов, индуцируемых в коре головного мозга животных в отдаленном периоде киндинга аппликацией раствора натриевой соли бензилпенициллина (16 000 МЕ/мл). Причем для исследования была избрана доза диазепама 0,1 мг/кг, которая при самостоятельном применении не была эффективна в отношении исследуемых параметров очаговой ЭПА.

Проведенные исследования показали, что под влиянием диазепама, введенного группе

крыс, которым ЛПС применяли за 24 ч до наблюдения, уже на 20-й минуте с момента введения препарата регистрировалось достоверное снижение частоты генерирования разрядов в очагах — на 45,3 % в сравнении с группой контроля ($P < 0,05$; рис. 3, а). В этой группе крыс на 40-й минуте с момента применения диазепама (0,1 мг/кг, в/бр) также регистрировалось снижение частоты генерирования спайковых разрядов в очагах — на 27,5 % в сравнении с группой контроля ($P < 0,05$; рис. 3, а). Указанные достоверные различия между группами сохранялись до конца наблюдения.

Под влиянием диазепама в обеих экспериментальных группах на 30-й минуте с момента его введения регистрировалось снижение амплитуды спайковых потенциалов очагов в сравнении с соответствующим показателем в группе контроля — соответственно на 22,1 и на 26,4 % ($P < 0,05$; см. рис. 3, б). Достоверные различия в сравнении с группой контроля сохранялись до конца наблюдения (см. рис. 3, б).

Исследование продолжительности существования пенициллин-индуцированных очагов ЭПА у крыс в условиях разделъ-

ного и сочетанного применения ЛПС и диазепама показало, что в группе контроля этот показатель составлял от 59 до 86 мин (в среднем $(72,9 \pm 3,3)$ мин). В группе животных, которым ЛПС применяли за 12–14 ч до наблюдения длительность существования очагов была меньше, чем в контроле, на 21,8 % ($P < 0,05$; рис. 4). В то же время, в группе крыс, котрым ЛПС применяли за 24 ч до наблюдения, данный показатель превышал таковой в группе контроля на 5,1 % ($P > 0,05$). Применение диазепама не изменяло длительность существования пенициллин-вызванных очагов, которая была меньше соответствующего показателя в группе контроля на 6,6 и 11,5 % соответственно при введении диазепама в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг, в/бр ($P > 0,05$; см. рис. 4). У крыс, которым применяли диазепам на фоне введения ЛПС, исследуемый показатель был достоверно меньшим, чем в контроле, — на 34,2 и 38,2 % соответственно при применении ЛПС за 12–14 и за 24 ч до наблюдения ($P < 0,05$; см. рис. 4).

Таким образом, представленные результаты показали, что создание с помощью аппликации на фронтальные отделы ко-

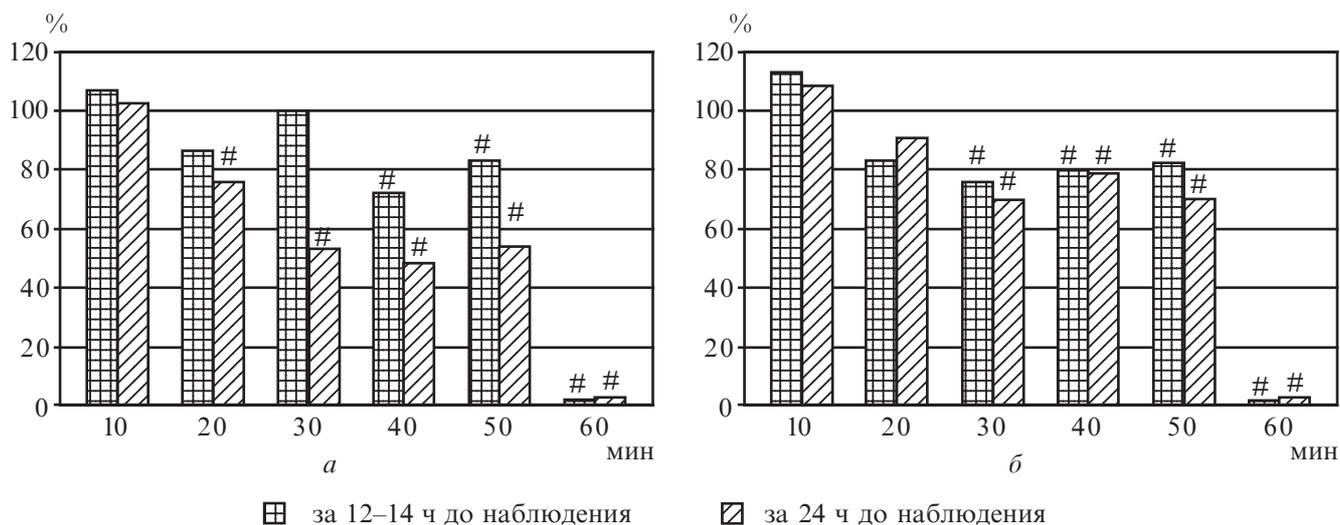


Рис. 3. Динамика частоты (а) и амплитуды (б) пенициллин-индуцированных очагов эпилептической активности в коре головного мозга крыс в отдаленном периоде коразолового киндлинга в условиях воздействия диазепама на фоне предварительного применения липополисахарида: по оси абсцисс — время с момента введения диазепама (минуты) в дозах 0,1 мг/кг, в/бр на фоне применения ЛПС; по оси ординат — исследуемые показатели (в процентах) по отношению к таковым в группе контроля, принятым за 100 %

ры головного мозга очагов ЭпА, осуществляемое на фоне предварительного применения ЛПС (за 12–14 ч до тестирования), сопровождается достоверным снижением динамики амплитудно-частотных характеристик спайковых потенциалов. Аналогичная динамика в условиях применения ЛПС за 24 ч до наблюдения не сопровождалась подавлением активности пенициллин-индуцированных очагов.

Применение диазепама в дозе 0,5 мг/кг, в/бр вызывало достоверное снижение амплитудно-частотных характеристик очагов, созданных аппликацией раствора пенициллина в коре головного мозга крыс в отдаленном периоде коразолового киндлинга, в то время как доза препарата 0,1 мг/кг, в/бр не оказывала подобного эффекта.

При сочетанном применении диазепама и ЛПС в дозах и в период, когда не отмечалось противоэпилептического действия при самостоятельном применении каждого из препаратов, наблюдался эффект сокращения времени генерирования спайковых потенциалов пенициллин-индуцированными очагами в коре головного мозга киндлинговых крыс. Этот эф-



Рис. 4. Длительность существования очагов эпилептической активности, созданных аппликацией раствора пенициллина в коре головного мозга крыс в отдаленном периоде киндлинга в условиях отдельного и сочетанного применения липополисахарида и диазепама: по оси абсцисс: I — эффекты ЛПС, примененного за 12–14 ч и за 24 ч до тестирования; II — влияние диазепама в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг, в/бр соответственно; III — применение диазепама в дозе 0,1 мг/кг, в/бр на фоне применения ЛПС; по оси ординат — длительность существования очагов в процентах по отношению к таковой в группе контроля, принятой за 100 %

фект свидетельствует о взаимном потенцировании противоэпилептического действия указанных факторов.

Можно полагать, что полученный результат усиления противосудорожных эффектов диазепама в отдаленном периоде действия ЛПС свидетельствует о важной роли активации бензодиазепиновых рецепторов в

контроле патологической возбудимости мозга крыс в отдаленном периоде киндлинга. Причем, по всей вероятности, речь может идти о том, что в условиях данной модели эпилепсии, отличающейся высокой резистентностью к действию противосудорожных препаратов [1; 3], наблюдаются существенные нарушения со стороны ГАМК-

бензодиазепиновой системы, представляющей собой один из возможных механизмов патогенеза киндлинг-индуцированной эпилептической активности.

Выводы

1. Бактериальный липополисахарид (0,1 мг/кг, в/бр) вызывает подавление пенициллин-индуцированной очаговой эпилептической активности у крыс с моделированным фармакологически резистентным эпилептическим судорожным синдромом. Данный эффект наблюдается через 12–14 ч с момента применения ЛПС.

2. В дозе, которая самостоятельно не оказывает эффекта снижения амплитуды и частоты

эпилептических разрядов пенициллин-индуцированных очагов, диазепам на фоне предварительного применения ЛПС вызывает противоэпилептический эффект, проявляющийся как в период 12–14 ч, когда противосудорожный эффект ЛПС выражен и при самостоятельном применении препарата, и через 24 ч, когда данный эффект не определяется.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Годлевский Л. С.* Влияние бактериального липополисахарида на пенициллин-индуцированную судорожную активность у крыс / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, И. В. Смирнов // *Нейрофизиология*. — 2008. — Т. 40, № 3. — С. 236-241.

2. *Смирнов И. В.* Вплив бактеріального ліпополісахариду на генералізовані клоніко-тонічні та клонічні судоми у щурів / І. В. Смирнов // *Досягнення біології та медицини*. — 2008. — Т. 11, № 1. — С. 26-31.

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

4. *The neuronal excitability time-dependently changes after lipopolysaccharide administration in mice: possible role of cyclooxygenase-2 induction* / E. S. Akarsu, S. Ozdayi, E. Algan, F. Ulupinar / *Epilepsy Res.* — 2006. — Vol. 71, N 2/3. — P. 181-187.

5. *Woodbury D. M.* Convulsant drug: Mechanisms of action / D. M. Woodbury // *Antiepileptic drugs: Mechanism of action*. — N. Y. : Raven Press, 1980. — P. 249-303.

УДК 612.826+612.8.-009

Е. В. Коболев, О. Г. Овчинникова

ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА И ДИАЗЕПАМА НА ЭПИЛЕПТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

В опытах на крысах-самцах линии Вистар, у которых с помощью повторного применения коразола (25,0–30,0 мг/кг, в/бр) формировали киндлинг-синдром и через три недели с момента его возникновения в условиях острого наблюдения на модели пенициллин-индуцированных очагов в коре головного мозга исследовали эффекты применения ЛПС (0,1 мг/кг, в/бр) и диазепам (0,1 и 0,5 мг/кг, в/бр). Установлено развитие потенцированного противосудорожного эффекта диазепам в отдаленном периоде действия ЛПС (12–14 ч с момента применения).

Ключевые слова: бактериальный липополисахарид, экспериментальный судорожный синдром, пенициллин, коразоловый киндлинг, диазепам.

UDC 612.826+612.8.-009

Ye. V. Kobolyev, O. G. Ovchinnikova

THE INFLUENCE OF COMBINED USAGE OF BACTERIAL LYPOPOLYSACCHARIDE AND DIAZEPAM UPON EPILEPTIC ACTIVITY

Under conditions of acute observation in rats kindled with corazol repeated administration (25–30 mg/kg, i. p.) in three-week period free from epileptogen administrations the influence of bacterial lipopolysaccharide LPS (0,1 mg/kg, i. p.) and diazepam (0,1 and 0,5 mg/kg, i. p.) administrations upon penicillin-induced foci in frontal cortex have been investigated. The development of potentiated antiseizure effect of diazepam revealed in postponed period of LPS action (12–14 h from the moment of administration) have been described.

Key words: bacterial lipopolysaccharide, experimental seizure syndrome, penicillin, corazol kindling, diazepam.

УДК 616.853-08:615.213:616-092.9

Н. В. Копйова

СПОНТАННА СУДОМНА АКТИВНІСТЬ ЗА УМОВ ПІЛОКАРПІН-ІНДУКОВАНОГО ЕПІЛЕПТИЧНОГО СТАТУСУ: ХАРАКТЕРИСТИКА МОДЕЛІ

Одеський державний медичний університет

Однією з найбільш суттєвих і клінічно релевантних особливостей епілепсії є розвиток спонтанних судом, що значно лімітує кількість експериментальних моделей, за умов яких мож-

на відтворити хронічну судомну активність. Для проведення експериментальних досліджень, присвячених вивченню патологічних механізмів хронічного епілептогенезу та до-

сконаленню методів патогенетичного лікування епілепсії, загальноприйнятими вважаються модель кіндлінгу та постстатусні моделі. З використанням зазначених моделей можна до-