

## ПОСИЛЕННЯ ПРОТИЕПІЛЕПТИЧНОЇ ДІЇ ДІАЗЕПАМУ ПІД ВПЛИВОМ КЕТОГЕННОЇ ДІЄТИ НА ВОГНИЩЕВІЙ МОДЕЛІ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

Одеський національний медичний університет

Застосування кетогенної дієти є ефективним фактором контролю епілептогенного збудження як за умов експерименту, так і у хворих на епілепсію, у тому числі на резистентну форму захворювання [2; 5]. Встановлено, що в основі протиепілептичної дії кетогенної дієти знаходиться комплексний вплив, який включає антиоксидантну дію, корекцію нейромедіаторних механізмів контролю збудливості нейрональних утворень мозку [5]. Однак залишаються не з'ясованими питання патогенезу вогнищевого епілептичного синдрому за умов поєднання кетогенної дієти з активацією бензодіазепінових механізмів мозку.

Тому метою цього дослідження було визначення особливостей динаміки активності епілептичних вогнищ, спричинених у корі головного мозку інтактних щурів аплікацією розчину натрієвої солі бензилпеніциліну за умов кетогенної дієти та її поєднання із застосуванням діазепаму.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводилося під час гострого експерименту на щурах-самцях лінії Вістар масою 180–250 г за стандартних умов їх утримання у виварію згідно з вимогами GLP та комісії з біоетики ОНМедУ (протокол № 84 від 10 жовтня 2008 р.).

До складу кетогенної дієти входило 80 % ліпідів, а також 3,3 % вуглеводів і 16,7 % білків

[4]. На вказаній дієті щурів утримували протягом 4 тиж., починаючи з моменту відтворення моделі кіндлінгових судом; наприкінці кожного тижня застосовували тестувальну дозу коразолу.

Щурам під нембуталовим наркозом (40,0 мг/кг, внутрішньочеревинно) за умов їх фіксації в стереотаксичному апараті СЕЖ-5 експонували фронтальні відділи кори головного мозку обох півкуль, де розташовували активний електрод. Індиферентний електрод фіксували в нових кістках черепа. Через 30 хв експериментальним тваринам вводили d-тубокурарин («Оріон», Фінляндія, 0,15 мг/кг, внутрішньовенно) і переводили їх на штучне дихання. Місця розсікання тканин голови і точки тиску деталей стереотаксичного апарату інфільтрували розчином новокаїну (0,25 %).

Вогнища епілептичної активності (ЕПА) створювали методом аплікації на поверхню мозку шматочків фільтрувального паперу (2 × 2 мм), які змочували в свіжоприготовленому розчині натрієвої солі бензилпеніциліну (20 000 МО/мл) [3].

Електричну активність структур мозку реєстрували через 1,5 год з моменту оперативного втручання за допомогою комп'ютерної системи «DX-5000» (Харків, Україна). При цьому частота опитування каналів становила 256 імпульсів/с, дані візуалізували на дисплеї та записували на жорсткий диск для подальшої обробки off-line, яку

проводили за допомогою програми «Matlab 7,0». Частотний діапазон сигналів становив 0,5–40 Гц.

Діазепам («Гедеон Ріхтер», Угорщина) використовували в дозах 0,05 і 1,0 мг/кг, внутрішньочеревинно. Тваринам контрольної групи за аналогічних умов застосовували 0,9%-й фізіологічний розчин NaCl. Ін'єкції препаратів проводили безпосередньо перед аплікацією розчину епілептогену.

Виразність вогнищевих ЕПА оцінювали за частотно-амплітудними характеристиками спайкових потенціалів, а також за загальною тривалістю існування вогнищ [2].

Статистичну обробку результатів досліджень (латентний період і потужність біоелектричної активності) проводили із використанням методу one-way ANOVA та критерію Newman–Keuls. Тяжкість судом оцінювали за допомогою критерію Kruskal–Wallis.

### Результати дослідження та їх обговорення

Створення вогнищ епілептогенезу за допомогою аплікації розчину пеніциліну на кору головного мозку у щурів групи контролю супроводжувалося формуванням інтеріктальних спайкових потенціалів, латентний період розвитку яких становив від 2,5 до 6,5 хв. Протягом 5–10 хв з моменту виникнення розрядів спостерігалось збільшення їх частоти й амплітуди відповідно до 25–45 за 1 хв і 1,5–2,0 мВ. Стійка за частотою й ампліту-

дою ЕпА у вогнищах реєструвалася протягом 15–25 хв, після чого у наступні 30–50 хв відбувалося поступове зниження величини та частоти спайкових потенціалів. Тривалість існування вогнищ у групі контролю становила від 60 до 95 хв (у середньому  $(73,4 \pm 10,2)$  хв).

Через 30 хв від моменту аплікації епілептогену у щурів, яких утримували на кетогенній дієті протягом 4 тиж., частота генерування у вогнищах дорівнювала  $(18,6 \pm 2,3)$  розрядів за 1 хв і була на 19,2 % менше, ніж у групі контролю ( $P < 0,05$ ; рис. 1). Вірогідні відмінності між групами зберігалися протягом наступних 30 хв спостереження. Крім того, через 50 хв із початку аплікації розчину бензилпеніциліну амплітуда розрядів також була меншою, ніж у контролі, на 18,3 % і становила  $(1,41 \pm 0,27)$  мВ ( $P < 0,05$ ) (див. рис. 1). Тривалість існування вогнищ за умов 4-тижневого утримання щурів на кетогенній дієті сягала від 45 до 80 хв (у середньому  $(64,8 \pm 8,3)$  хв) і не відрізнялася від відповідного показника в групі контролю ( $P > 0,05$ ).

На 30-й хвилині з моменту застосування діазепаму в дозі 1,0 мг/кг, внутрішньочеревинно спостерігалася вірогідне зниження частоти генерування спайкових потенціалів у вогнищах ЕпА на 27,7 % порівняно з відповідними показниками в групі контролю ( $P < 0,05$ ; рис. 2, а). Подальше безперервне спостереження протягом 30 хв засвідчило збереження вірогідних відмінностей між групами, які на 60-й хвилині дорівнювали 37,5 % ( $P < 0,05$ ; див. рис. 2, а). Під впливом діазепаму (1,0 мг/кг) на 40-й хвилині спостерігалася зменшення амплітуди розрядів, порівняно з показником у групі контролю, на 21,8 % ( $P < 0,05$ ; рис. 2, б). Вірогідні відмінності між групами зберігалися до кінця спостереження і на 60-й хвилині різниця становила 25,3 % ( $P < 0,05$ ) (див. рис. 2, б). Застосування діазепаму не

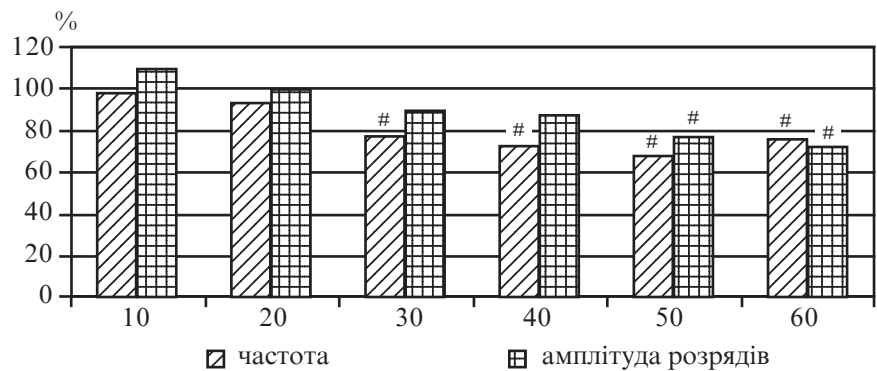


Рис. 1. Динаміка частоти й амплітуди пеніцилін-індукованих вогнищ епілептичної активності в корі головного мозку інтактних щурів за умов їх утримання на кетогенній дієті: за віссю абсцис — час від моменту аплікації епілептогену (розчин натрієвої солі бензилпеніциліну, 20 000 МО/мл) на кору головного мозку (хв); за віссю ординат — досліджувані показники (у відсотках) порівняно з групою контролю (прийнято за 100 %); # —  $P < 0,05$  порівняно з показником у групі контролю

змінювало тривалості існування пеніцилін-індукованих вогнищ, яка була меншою від відповідного показника у групі контролю на 7,7 і 12,4 % при введенні діазепаму в дозах 0,05 та 1,0 мг/кг, внутрішньочеревинно ( $P > 0,05$ ).

За умов застосування діазепаму в самостійно неефектив-

ній дозі (0,05 мг/кг, внутрішньочеревинно) і кетогенної дієти тривалістю 2 тиж., яка також не спричинювала впливу на показники вогнищового епілептогенезу, уже через 20 хв з моменту застосування діазепаму частота генерування спайкових потенціалів зменшувалася на 23,7 % порівняно з відповід-

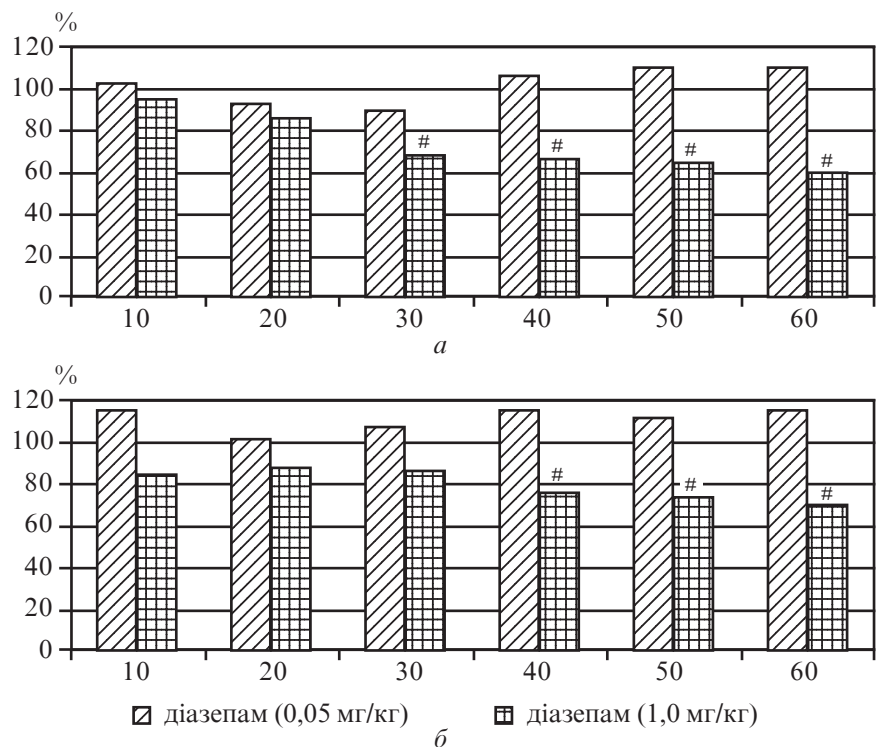


Рис. 2. Динаміка частоти (а) й амплітуди (б) пеніцилін-індукованих вогнищ епілептичної активності в корі головного мозку щурів за умов застосування діазепаму: за віссю абсцис — час від моменту аплікації епілептогену (розчин натрієвої солі бензилпеніциліну, 20 000 МО/мл) і від моменту застосування діазепаму (хв); за віссю ординат — досліджувані показники (у відсотках) порівняно з групою контролю (прийнято за 100 %); # —  $P < 0,05$  порівняно з показниками у групі контролю

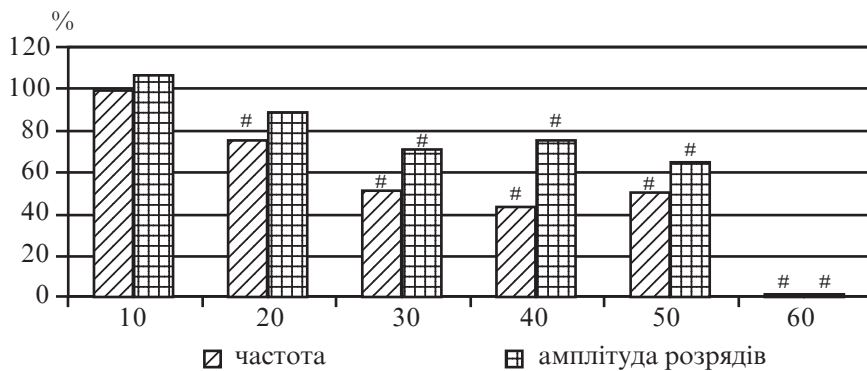


Рис. 3. Динаміка частоти й амплітуди пеніцилін-індукованих вогнищ епілептичної активності в корі головного мозку щурів за умов застосування діазепаму на фоні попереднього утримання щурів на кетогенній дієті: за віссю абсцис — час від моменту введення діазепаму (хв); за віссю ординат — досліджувані показники (у відсотках) порівняно з групою контролю (прийнято за 100 %); # —  $P < 0,05$  порівняно з показниками у групі контролю

ними показниками у групі контролю і дорівнювала ( $17,1 \pm 1,4$ ) розрядів за 1 хв ( $P < 0,05$ ; рис. 3). Вірогідне зменшення амплітуди розрядів на 25,8 % спостерігалось на 30-й хвилині з моменту застосування діазепаму ( $P < 0,05$ ). При цьому вірогідні відмінності між групами зберігалися до кінця спостереження, а тривалість існування вогнищ скорочувалася до ( $45,7 \pm 5,6$ ) хв (з коливаннями від 27,5 до 63,5 хв;  $P < 0,05$ ).

Отже, наведені результати показали, що створення вогнищ ЕпА за допомогою аплікації на фронтальні відділи кори головного мозку щурів розчину пеніциліну (на фоні попереднього утримання тварин на кетогенній дієті протягом 2 тиж.) супроводжується вірогідним зниженням динаміки амплітудно-частотних характеристик спайкових потенціалів. За умов формування пеніцилін-індукованої вогнищевої форми епілептогенезу було неефективним застосування кетогенної дієти протягом 2 тиж., а також діазепаму в дозі 0,05 мг/кг, що свідчить про достатньо високу потужність вогнищ ЕпА, їх резистентність до протіепілептичних впливів. Слід зазначити, що вогнища ЕпА, які відтворювали аплікаціями на кору мозку менш концентрованих розчинів пеніциліну, були чутливими до протіепілептичної

дії діазепаму, який застосовували в дозах 0,01 і 0,05 мг/кг, внутрішньочеревинно [1; 3]. Отримані результати також засвідчили, що більш висока доза діазепаму (1,0 мг/кг, внутрішньочеревинно) викликала пригнічення амплітудно-частотних характеристик вогнищевої активності, хоча і не приводила до скорочення загальної тривалості їх існування.

Застосування діазепаму в самостійно неефективній дозі (0,05 мг/кг, внутрішньочеревинно), але на фоні попереднього утримання щурів на кетогенній дієті, тривалість якої (2 тиж.) не спричинювала модулюючого ефекту щодо вогнищевої ЕпА, супроводжувалося виникненням протисудомного ефекту. Цей ефект проявлявся пригніченням амплітуди та частоти епілептичних потенціалів, а також скороченням загальної тривалості існування епілептичних вогнищ. Такий результат свідчить про можливість підвищення чутливості епілептизованих нейронів кори головного мозку до протисудомної дії діазепаму (бензодіазепінів) на фоні застосування кетогенної дієти.

Можна вважати, що дія кетогенної дієти на функціональний стан нейронів є комплексною та здійснюється як завдяки збільшенню тону ГАМК-ергічної гальмівної сис-

теми, антиоксидантного потенціалу, у тому числі за рахунок продукції оксиду азоту, так і шляхом пригнічення впливу збуджувальних амінокислот [4; 5]. Як відомо, посилення ГАМК-ергічної медіації забезпечує підвищення нейротропних ефектів діазепаму та феназепаму, в тому числі протисудомної дії препаратів [1; 3].

## Висновки

1. Утримання інтактних щурів на кетогенній дієті протягом 2 тиж. приводить до розвитку протіепілептичних ефектів на моделі вогнищевої форми ЕпА, індукованої в корі головного мозку аплікацією розчину натрієвої солі бензилпеніциліну.

2. Застосування діазепаму (у дозі 0,05 мг/кг, внутрішньочеревинно) та 2-тижневе утримання щурів на кетогенній дієті, які не викликають протисудомної дії самостійно, супроводжуються формуванням протіепілептичного ефекту щодо пеніцилін-індукованої вогнищевої форми ЕпА.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Моделирование* и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома / Л. С. Годлевский, Е. В. Кобелев, В. Ф. Мустаца, Г. А. Дроздова. – Одесса : КП ОГТ, 2010. – 350 с.
2. *Кетогенная* диета в лечении фармакорезистентных эпилепсий / Е. Л. Усачева, С. О. Айвазян, Т. Н. Сорвачева [и др.] // *Лечащий врач*. – 2004. – № 5. – С. 46–50.
3. *Шандра А. А.* Киндлинг и эпилептическая активность / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов. – Одесса : Астропринт, 1999. – 272 с.
4. *The ketogenic diet: from molecular mechanisms to clinical effects* / J. Freeman, P. Veggiotti, G. Lanzi [et al.] // *Epilepsy Res.* – 2006. – Vol. 68. – P. 145–180.
5. *Increased nitric oxide* caused by the ketogenic diet reduces the onset time of kainic acid-induced seizures in ICR mice / H. S. Noh, D. W. Kim, G. J. Cho [et al.] // *Brain Res.* – 2006. – Vol. 1075. – P. 193–200.

## ПОСИЛЕННЯ ПРОТІЕПІЛЕПТИЧНОЇ ДІЇ ДІАЗЕПАМУ ПІД ВПЛИВОМ КЕТОГЕННОЇ ДІЄТИ НА ВОГНИЩЕВІЙ МОДЕЛІ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

У дослідях на щурах-самцях лінії Вістар за умов гострого експерименту на моделі пеніцилін-індукованих вогнищ у корі головного мозку досліджували ефекти 4-тижневого застосування кетогенної дієти (80 % ліпідів, 3,3 % вуглеводів і 16,7 % білків) і діазепаму (0,05 і 1,0 мг/кг, внутрішньочеревинно). Установлено розвиток виразного протисудомного ефекту діазепаму в самостійно неефективній дозі (0,05 мг/кг) на фоні утримання щурів на кетогенній дієті.

**Ключові слова:** кетогенна дієта, судомний синдром, діазепам.

## INCREASING OF ANTI-EPILEPTIC ACTION OF DIAZEPAM CAUSED BY KETOGENIC DIET ON FOCAL MODEL OF EPILEPTIC ACTIVITY

The effects of rats experiments ketogenic diet usage (80% of lipids, 3.3% of carbohydrates and 16.7% of proteins) and diazepam (0.05 and 1.0 mg/kg, i. p.) of male Wistar upon penicillin-induced foci of epileptogenesis have been investigated under acute conditions. The precipitation of pronounced antiseizure effects after administration of diazepam in independent non-effective dosage (0.05 mg/kg, i. p.) in rats under ketogenic diet was described.

**Key words:** ketogenic diet, seizure syndrome, diazepam.

УДК 612.0014.42+577.3

С. Л. Цевелев

## ВПЛИВ НАДВИСОКОЧАСТОТНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ЕПІЛЕПТИЧНІ ВОГНИЩА РІЗНОЇ ПОТУЖНОСТІ

*Одеський національний медичний університет*

Відомо, що наслідком активації утворень антиепілептичної системи мозку, яка може здійснюватися електричним подразненням окремих нейронних структур або застосуванням більш загального впливу на мозок преформованими факторами фізичної природи, може бути як ослаблення, так і посилення рівня епілептогенного збудження [2; 5]. Протилежний характер ефектів, який можна спостерігати за умов активації утворень антиепілептичної системи мозку, можна пояснити явищами на рівні стану гальмівних механізмів у вогнищах епілептогенного збудження, залежністю характеру ефекту від сили подразника, особливостей обраної для тестування ефектів моделі епілептичного синдрому, а також функціонального стану мозку піддослідної тварини [2; 4]. Досі не було досліджено залежності впливів надвисоко-частотного (НВЧ) електромагнітного випромінювання (ЕМВ) від рівня епілептогенного збудження структур мозку.

**Метою** цього дослідження є вивчення ефектів впливів НВЧ ЕМВ різної тривалості на активність вогнищ вихідної слабкої та високої потужності. Крім того, досліджували особливості впливів у двох режимах — до створення вогнищ і на фоні їх формування.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на щурах-самцях лінії Вістар масою 270–320 г. В умовах ефірного рауш-наркозу тваринам здійснювали трахеостомію, трепанацію черепа, експонували лобно-тім'яні відділи кори головного мозку. Ніхромові електроди для реєстрації електричної активності кріпили до кісток черепа за допомогою зуботехнічної пластмаси типу «Норакрил». Тварин переводили на штучне дихання введенням d-тубокурарину (0,25 мг/кг, внутрішньочеревинно) («Orion», Фінляндія). Спостереження починали через 2,5 год з моменту припинення ефірного наркозу.

Після розтину твердої мозкової оболонки за допомогою аплікації шматочка фільтрувального паперу (2 × 2 мм) на фронтальні відділи кори головного мозку, змоченого у свіжо-приготовленому розчині натрієвої солі бензилпеніциліну (10 000 МО/мл), створювали вогнища епілептичної активності (ЕпА). Активність цих вогнищ реєстрували за допомогою комп'ютерного електроенцефалографа («DX-5000», Харків) монополярно, для чого індиферентний електрод кріпили в носових кістках черепа.

Потужність вогнищ ЕпА виражали в умовних одиницях, взявши за 1 одиницю середню амплітуду в 1,0 мВ при частоті генерування розрядів 1 за хвилину. Для оцінки рівня ЕпА брали епоху генерування розрядів тривалістю 1 хв, тривалість існування вогнищ визначали від першого до останнього спайка [2]. Показники потужності, що розраховували в динаміці ЕпА, брали за 100 % і порівнювали з такими, що спостерігали у відповідні