



УКРАЇНА

(19) UA (11) 30942 (13) A

(51) 6 A61B5/06

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ РЕЗИСТИВНОЇ ФОРМИ ЕПІЛЕПСІЇ

(21) 98063261

(22) 23.06.1998

(24) 15.12.2000

(33) UA

(46) 15.12.2000, Бюл. № 7, 2000 р.

(72) Брусенцов Олександр Іванович, Шандра Олексій Антонович, Годлевський Леонід Семенович, Вастьянов Руслан Сергійович, Мороз Василь Володимирович, Супрун Світлана Олександрівна, Помазанова Тетяна Миколаївна, Жуковський В'ячеслав Іванович, Сохань Станіслав Євгенович

(73) ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб моделювання резистивної форми епілепсії, який включає застосування речовин з епілептогенною дією та відрізняється тим, що призначають щоденно внутрішньочеревне введення пікротоксину дозою 1,0-1,2 мг/кг протягом трьох тижнів, і після наступної тритижневої перерви у введеннях епілептогену застосовують внутрішньощлуночково кайнову кислоту дозою 4,8-5,0 мг.

Спосіб відноситься до медицини, а саме: до патофізіології, нейрофізіології та неврології, - і може бути використаний для вивчення механізмів виникнення та розвитку резистивності до дії фармакологічних агентів, а також розробки та впровадження вискоєфективних методів її фармакологічної корекції.

Відомим є метод моделювання резистивної епілепсії шляхом відтворення у експериментальних тварин кіндлінгу за допомогою електричного подразнення структур мозку через попередньо вживлені електроди [1]. Згідно з цим способом, після виникнення у тварин кіндлінгу та перерви у подальших подразненнях протягом трьох-чотирьох тижнів знову розпочинають подразнення того ж самого нейронального утворення. Судоми, які виникають за цих умов (рекіндлінгові або відставлені за часом судоми) характеризуються високою резистивністю до впливу деяких фармакологічних агентів, а саме: фенобарбіталу і дифеніну. Але слід зазначити, що цей метод відтворення резистивності є досить віддаленим від звичайних умов розвитку епілепсії, формування її резистивності і до фармакотерапії - за звичайних умов немає ситуації, коли виникнення епілептичного вогнища відбувається завдяки електричним подразненням відповідних нейрональних утворень. Також слід зазначити, що згідно з запропонованим методом не досягається висока ступінь відтворення захворювання - більшість тварин не мають схильності до розвитку генералізованих судом, а в процесі повторних подразнень виникають механічні зрушення положення електродів, що також знижує ефективність методу.

Інша модель резистивної форми епілепсії, що є стійкою до фармакотерапії є успадкована абсансна форма епілепсії (щурі лінії WAG/Rij) [3]. За умов використання цієї моделі спостерігають абсансні прояви у тварин в перший місяць після народження, а потім обирають тих, які мають виразні прояви спайк-хвильової активності в ЕЕГ, та деякі поведінкові кореляти абсансної епілепсії. Але необхідно підкреслити, що за умов використання цієї форми епілепсії потрібно чекати 6-місячного віку тварин, коли має місце максимум епілептиформних проявів, а сама резистивність спостерігається у вигляді тимчасового протиепілептичного ефекту відразу після застосування препаратів. Тобто резистивність пов'язана не зі збільшенням порогу до дії антиепілептичного засобу, а є наслідком активності відповідних генів, які продовжують бути активними після нормалізації концентрації препаратів в крові. Тобто йдеться про псевдорезистивність.

Найбільш близьким до способу, який пропонується (спосіб-прототип) є спосіб відтворення хронічної епілептичної активності у експериментальних тварин за допомогою повторного системного (внутрішньочеревного) застосування пікротоксину, який використовують в підпорогових дозах (1,0-1,2 мг/кг) щоденно одноразово протягом трьох тижнів [2]. Після виникнення у тварин генералізованих клоніко-тонічних судом роблять перерву у введеннях епілептогену, а через три тижні знову внутрішньочеревно застосовують пікротоксин в підпороговій дозі (1,0-1,2 мг/кг). Судоми, які виникають, є резистивними до антиепілептичної дії фенобарбіталу та дифенілу [2]. Тобто резистивність до фармакотерапії виявляється у формі підви-

(19) UA (11) 30942 (13) A

щення порогу антиепілептичної дії відповідних препаратів.

Потрібно зазначити, що відповідно до цього способу фармакорезистентність є вибірковою і визначається у відношенні до впливу лише деяких антиепілептичних препаратів, в той час як, наприклад, вплив карбамазепіну не змінюється (власний досвід). Тобто за умов відтворення резистивної форми епілепсії згідно зі способом-прототипом є змога відтворення лише певних форм резистивності, що може бути пов'язане зі специфічними механізмами впливу пікротоксину на організм експериментальної тварини.

Таким чином, спосіб-прототип не відображує загальнопатологічних механізмів виникнення та розвитку фармакорезистивності експериментальної епілепсії.

В основу винаходу покладене завдання вдосконалення способу моделювання резистивної форми епілепсії, в якому на першому етапі відтворюють хронічну форму епілепсії шляхом повторного застосування підпорогової дози пікротоксину, а потім викликають генералізовану форму судом шляхом введення агоністу рецепторів збуджувачих амінокислот (каїнової кислоти в дозі 5,0 мкг).

Поставлене завдання вирішується таким способом. Статевозрілим щурам лінії Вістар масою 270-320 г внутрішньочеревно щоденно однократно застосовують розчин пікротоксину (Sigma, США) виходячи із розрахунку 1,2 мг/кг. Спостерігають виникнення клонічних судом після третьої-п'ятої ін'єкції препарату. Ще через 5-7 ін'єкцій судоми охоплюють всі м'язи тулуба і передні кінцівки, а після 15-17-ї ін'єкцій виникають генералізовані клоніко-тонічні судоми. Введення пікротоксину продовжують до 21-ї доби. Відбирають тих щурів, у яких спостерігались повторні генералізовані судоми на останні три ін'єкції епілептогену. Після перерви у введеннях (три тижні) за допомогою мікроін'єктора (Hamilton, США) в об'ємі 5,0 мкл фосфатного буферного розчину в бокові шлуночки через попередньо імплантовану канюлю роблять ін'єкцію розчину каїнової кислоти в дозі 5,0 мкг. Спостерігають виникнення через 2-5 хв з моменту ін'єкції клонічних судом окремих груп м'язів, які згодом охоплюють всі групи м'язів, виникає тоніко-клонічний приступ з порушенням рівноваги, падінням тварин на бік та вегетативними розладами. Такі генералізовані прояви носять повторний характер і закінчуються летальним виходом у 75% експериментальних тварин. Визначення  $ED_{50}$  класичних антиепілептичних препаратів за умов каїнат-індукованих генералізованих судом свідчить про збільшення їх дози порівняно з такою, яка є ефективною по відношенню до каїнат-індукованих (20 мкг, внутрішньошлуночково) генералізованих судом у інтактних тварин в 2,5-8,3 рази. Наприклад, за умов відтворення запропонованої моделі резистивної епілепсії  $ED_{50}$  фенобарбіталу збільшувалась в

8,3 рази,  $ED_{50}$  дифеніну - в 5,7,  $ED_{50}$  вальпроата натрію - в 2,5 рази,  $ED_{50}$  карбамазепіну в 7 разів,  $ED_{50}$  діазепаму - в 3,5 рази. Таким чином, йдеться про відтворення універсальної моделі, резистивної до фармакотерапії форми експериментальної епілепсії.

Приклад конкретного виконання способу

У щура-самця лінії Вістар масою 270 г відтворюють хронічну епілептичну активність шляхом повторного щоденного внутрішньочеревного введення пікротоксину (Sigma, США) в підпороговій дозі (1,1 мг/кг). Введення здійснюють протягом 21 доби - спостерігають виникнення перших клонічних судом після 5-ї ін'єкції епілептогену, посилення проявів судом з охопленням всіх м'язів тулуба, генералізованими проявами після 15-ї ін'єкції, які набувають повторного характеру після 20-ї, 21-ї ін'єкцій. На 3-у добу після завершення введення епілептогену виконують стереотаксичну операцію під нембуталовим наркозом (35 мг/кг, в/чер) по вживленню канюлей в бокові шлуночки мозку. Після тритижневої перерви у введеннях епілептогену за умов довільної поведінки щура здійснюють введення розчину каїнової кислоти дозою 5,0 мкг об'ємом 5,0 мкл фосфатного буферного розчину. За 5,3 хв спостерігають виникнення клонічних проявів, які ще за 4,5 хв охоплюють м'язи передніх кінцівок, а за 4,0 хв набувають генералізованого характеру, що сприяє порушенню рівноваги щура, його падінню на бік. За цих умов спостерігають флексії задніх кінцівок, вегетативні розлади. Внутрішньочеревне застосування діазепаму дозою 1,0 мг/кг не викликає змін судомних проявів, що є підтвердженням їх резистивності до фармакотерапії.

Розроблений спосіб був використаний при вивченні ефектів фармакологічних антиепілептичних препаратів та визначенні оптимальної їх комбінації з метою пригнічення проявів резистивної епілепсії. Отримані результати свідчать про високу ефективність розробленої моделі, її простоту, інформативність та адекватність щодо клінічних форм захворювання.

Джерела інформації:

1. Loscher W., Rundfeld C., Honack D. Pharmacological characterization of phenytoin-resistant amygdala-kindled rats, a new model of drug-resistant partial epilepsy // *Epilepsy Res.* - 1993. - Vol. 15. - P. 207-219.
2. Shandra A.A., Mazarati A.M., Godlevsky L.S., Vastyanov R.S. Chemical kindling: implications for antiepileptic drugs-sensitive and resistant epilepsy models // *Epilepsia.* - 1996. - Vol. 37, N 3. - P. 269-274.
3. The WAG/Rij rat model of absence epilepsy: ten years of research (Editors: Gilles van Luijckelaar, Anton Coenen). - NICI. - 1997. - 433 pp.

---

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

---

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2002 р. Формат 60х84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 35 прим. Зам. \_\_\_\_\_

---

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22

---