

## ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СУДОРОЖНУЮ АКТИВНОСТЬ В УСЛОВИЯХ КОРНЕАЛЬНОГО КИНДЛИНГА У МЫШЕЙ И МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450

Одесский национальный медицинский университет (г. Одесса)

\*Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина (г. Харьков)

yuriyalex@gmail.com

\*etantsura55@gmail.com

**Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами.** Статья выполнена в рамках научно-исследовательской работы кафедры физиологии по теме «Биологические и фармакологические свойства агонистов TRP-рецепторов природного происхождения», № государственной регистрации 0115U006655.

**Вступление.** У 35 % пациентов, страдающих эпилепсией, что составляет более 65 млн. в мире, отмечается фармакорезистентность к антиэпилептическим препаратам (АЭП) [1]. Механизмы развития фармакорезистентности остаются не выясненными, и являются предметом пристального внимания исследователей [2,3,4]. Фармакорезистентная форма эпилепсии сочетается с существенным возрастанием частоты тяжелых коморбидных нарушений [5], увеличивает затраты на лечение [6] и риск внезапной смерти [7]. Несмотря на существенные достижения в понимании патофизиологических механизмов эпилепсии и внедрение новых АЭП третьего поколения, число пациентов, у которых не удается достичь контроля судорожных припадков остается неизменным. Поэтому актуальной задачей экспериментальной и клинической эпилептологии является необходимость разработки более эффективной фармакотерапии фармакорезистентной эпилепсии.

Фармакокинетическая теория формирования резистентности при эпилепсии предполагает, что усиленная экспрессия белков-транспортеров АЭП через гематоэнцефалический барьер и экспрессия некоторых аллельных вариантов метаболических ферментов системы цитохрома P450 модифицирует концентрацию АЭП в головном мозге пациентов [8]. Показано, что одной из причин развития фармакорезистентности является измененная индивидуальная чувствительность к АЭП обусловленная полиморфизмом генов, кодирующих ферменты системы цитохрома P450, участвующей в метаболизме АЭП [9,10]. Ферменты системы цитохрома P450 метаболизируют около 90 % применяемых лекарственных средств. Из всех АЭП только леветирацетам и ламотриджин не метаболизируются системами цитохрома P450. АЭП по влиянию на ферменты цитохрома P450 можно разделить на индукторы и ингибиторы. В клинических исследованиях показано, что комбинированное применение таких АЭП, как фенитоин, карбамазепин, фенобарбитал, бензодиазепины и других АЭП индукторов фермента цитохрома P450, существенно влияет на их фармакокинетику [11,12].

С другой стороны, такие АЭП, как осполот и стирепентол, являются сильными ингибиторами ферментов цитохрома P450 [13]. Однако их взаимодействие с другими АЭП не исследовано. С учетом того, что пациенты, страдающие фармакорезистентностью, как правило, нуждаются в комбинированной терапии, возникающие при этом какие-либо фармакокинетические взаимодействия между АЭП или АЭП и другими лекарственными средствами, применяемыми при других заболеваниях, кроме эпилепсии, могут существенно повлиять на эффективность и безопасность терапии эпилепсии.

**Целью настоящей работы** явилось исследование влияния индукторов и ингибиторов ферментов цитохрома P450 на выраженность противосудорожного действия общепринятых АЭП, в условиях корнеального киндлинга у мышей. Отдельной задачей работы было исследование поведенческих изменений, возникающих у животных со сформированным синдромом корнеального киндлинга, на фоне введения АЭП.

**Объект и методы исследования.** Животные. Исследования проведены на беспородных белых мышках-самцах массой 17-20 г экспериментально-биологической клиники Одесского национального медицинского университета, которые содержались в стандартных условиях вивария. Опыты были выполнены согласно рекомендациям Европейской конвенции по экспериментам на животных и утверждены комиссией по вопросам биоэтики Одесского национального медицинского университета (протокол от 10 октября 2008 г. № 84). В работе с лабораторными животными также следовали «Правилам выполнения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных приказом МОЗ Украины № 249 от 01.03.2012 и Закона Украины № 3447-IV «Про защиту животных от жестокого обращения» (с изменениями от 15.12.2009 г. и от 16.10.2012 г.).

**Модель корнеального киндлинга.** Киндлинг вызывали с помощью прямоугольноимпульсного электростимулятора "Astro-Med / Grass Technologies S48" (Artisan Technology Group, USA). Электростимуляцию (ЭС) проводили транскорнеально, перед нанесением электродов роговицу орошали 2 % водным раствором лидокаина. Параметры электростимуляции: частота тока – 60 Гц, сила тока – 3 мА, продолжительность – 3 сек [14]. Процедуру проводили дважды в день, ежедневно, перерыв между сеансами ЭС не менее 4 часов. Животные подвергались ЭС до мо-

мента развития устойчивых, повторных судорог интенсивностью не менее 5 баллов. Оценку интенсивности судорог в баллах проводили следующим образом: 0 баллов – отсутствие каких-либо судорожных проявлений и реакции замирания; 1 балл – миоклонические вздрагивания нижней челюсти; 2 балла – миоклонические вздрагивания конечностей и головы; 3 балла – клонические судороги передних конечностей, 4 балла – клонические судороги передних конечностей с подъемом на задние конечности и падением на бок; 5 баллов – генерализованные судороги с немедленной потерей равновесия и падением, подобный ответ считали «развившимся киндлингом» [15]. В дальнейшем животные подвергались электростимуляции 1 раз в сутки, в течение 5 суток. Мыши, у которых наблюдались судорожные реакции с интенсивностью менее 5 баллов, не включались в последующий анализ.

**Экспериментальные группы.** Животные с развившимся корнеальным киндлингом были разделены на 3 группы по 20 мышей. Первая группа животных получала водно-твиновую эмульсию (10 % твин-80), содержащую карбамазепин в дозе 5 мг/кг, общий объем вводимой эмульсии 0,1 мл, введения проводили за 15 минут до начала ЭС. Вторая группа животных получала водно-твиновую эмульсию (10 % твин-80), содержащую сультиам в дозе 50 мг/кг, общий объем вводимой эмульсии 0,1 мл, введения проводили за 15 минут до начала ЭС. Третья группа служила в качестве контроля и получала твиновую эмульсию (10 % твин-80) без добавок, объем вводимой эмульсии 0,1 мл, введения проводили за 15 минут до начала ЭС. Введение препаратов и плацебо осуществляли интрагастрально один раз в сутки, ежедневно, в течение 17 дней. Дозы использованных препаратов преимущественно соответствовали установленным  $ED_{50}$  [16].

**Исследование противосудорожного действия.** Исследование противосудорожного действия препаратов начинали через 5 дней после последней ЭС. Использовали следующие препараты: карбамазепин – дозы 7 мг/кг, 12 мг/кг, введение за 15 мин. до ЭС; сультиам – дозы 100 мг/кг, 200 мг/кг, 300 мг/кг, введение за 1 ч до ЭС; леветирацетам – дозы 30 мг/кг, 60 мг/кг, 120 мг/кг, введение за 1 ч до ЭС; ла-

мотриджин – дозы 30 мг/кг, 50 мг/кг, введение за 30 мин. до ЭС; вальпроат – дозы 75 мг/кг, 150 мг/кг, 300 мг/кг, введение за 15 мин. до ЭС; ретигабин – дозы 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, введение за 30 мин. до ЭС. Все препараты вводили интрагастрально в твиновой эмульсии (водонерастворимые), либо в физ. растворе (водорастворимые). Исследования противосудорожного действия для каждой дозы осуществлялось на экспериментальных группах, состоящих из 6 и более животных. Исследования противосудорожной активности проводили дважды, интервал между исследованиями не менее 2 суток.

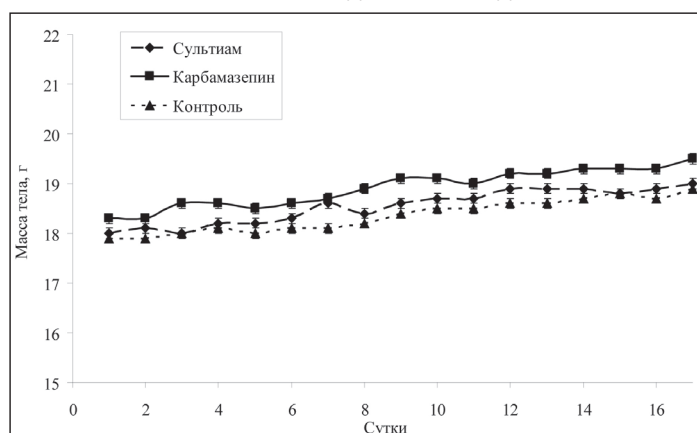
**Исследование поведенческой активности.** Для исследования поведенческой активности использовали тесты «черно-белая камера» (ЧБК) и «открытое поле» (ОП). ЧБК представляла собой закрытую камеру, разделенную на два не равных отдела. Большой отдел, имел размер 30x30x20 см (длина x ширина x высота стенок), сверху освещался лампочкой накаливания мощностью 60 Вт, приподнятой на 1 м по отношению к полу отсека. Меньший отсек имел размер 10x10x20 см (длина x ширина x высота стенок) и закрывался сверху непрозрачной крышкой. В перегородке разделяющей светлый и темный отсеки имелось отверстие 3x3 см, закрывавшееся подвижной дверцей.

Все исследования проводились в дневное время, с 14.00 до 17.00. Экспериментальное животное помещалось в темный отсек, после чего подвижная дверца удалялась. Фиксировалось общее время нахождения животного в темном отсеке ЧБК.

В качестве ОП использовали пластиковый квадрат (60x60 см) с высотой бортов 20 см, пол которого был размечен на 25 равных квадратов. Животное помещалось на периферийные квадраты. Время нахождения животного в ОП 180 с. Фиксировалось общее число пересеченных квадратов (горизонтальная активность) и вертикальных стоек на задних конечностях [17].

**Статистическая обработка полученных данных.** Предварительное распределение животных по экспериментальным группам было рандомизированным. Распределение полученных в ходе исследований данных проверяли на нормальность при помощи теста Шапиро-Уилка. Так как все полученные данные имели нормальное распределение, ANOVA проводили с использованием *t*-критерия Стюдента с поправкой Бонферрони. Расчеты выполняли при помощи программного пакета MS Office EXCEL [18].

**Результаты исследования.** Перед проведением исследований был проведен отбор животных по массе тела. В работу были включены особи с массой тела 17-19 г. Данные по изменению массы тела экспериментальных животных представлены на **рис. 1**. В течение 18 суток, формирования судорожного синдрома, средняя масса тела животных в каждой из опытных групп изменилась не значительно (менее, чем на 1 г). Наибольшая средняя масса тела была зарегистрирована в группе, которой перед ЭС вводили карбамазепин – 19,5 г. Тем не менее, наблюдаемая разница с остальными группами ( $\Delta m = 0,5-0,6$  г), является незначительной и не имеет принципиального значения, а обуслов-



**Рис. 1.** Динамика изменений массы тела мышей в условиях корнеального киндлинга и интрагастрального введения противосудорожных препаратов (линии «Сультиам» и «Карбамазепин») либо интрагастрального введения водной эмульсии твин-80 (линия «Контроль»).

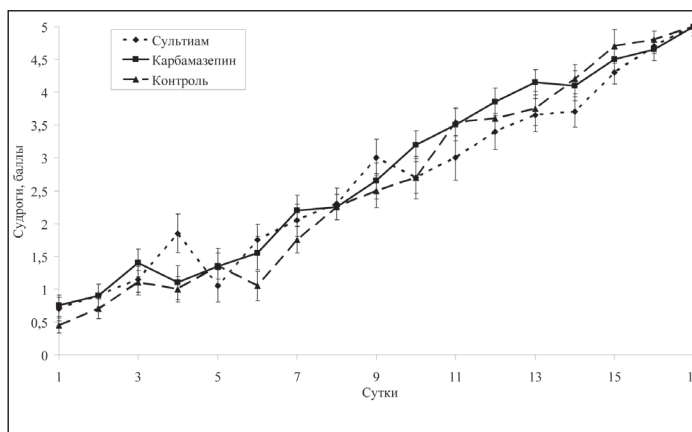
лена разбросом показателей в выборке. Отсутствие роста массы тела связано, как с острым стрессовым воздействием в виде двукратной ежедневной ЭС, так и с ежедневным интрагастральным введением противосудорожного препарата. Однако, отсутствие существенной разницы в средней массе тела между группами животных, получавших препараты интрагастрально, и животными контрольной группы, с которыми подобная процедура не проводилась, свидетельствует о незначительной роли интрагастрального введения в уменьшении набора массы тела. Также необходимо отметить низкую смертность животных на протяжении эксперимента, число погибших животных составило 3,3 %.

Формирование эпилептического синдрома проводили с помощью метода корнеального киндлинга. Динамика изменений судорожных проявлений в ответ на повторную корнеальную ЭС представлена на **рис. 2**. В течении первых 6 дней выраженность судорог колебалась от 0,5 до 1,5 баллов, после чего наблюдался линейный рост интенсивности судорожной активности у большинства животных в группе. Максимальные показатели судорожных проявлений были отмечены к 17 суткам ЭС и составляли ~4,5 балла для каждой группы. Отсутствие достоверных отличий в интенсивности проявлений судорожного синдрома в разных группах животных обусловлена исключением из анализа животных, обладающих высоким судорожным порогом и дающих низкий судорожный ответ. Также следует учесть, что оба противосудорожных препарата использовались в субэффективных дозах – 50 мг/кг для сультиама и 5 мг/кг для карбамазепина, соответственно, которые близки к  $ED_{50}$  препаратов в условиях максимальных электрошоковых судорог [19].

Выраженность противосудорожных эффектов различных АЭП в условиях сформированного корнеального киндлинга представлена на **рис. 3**.

Введение карбамазепина вызывало достоверное дозозависимое уменьшение интенсивности судорог в группе сультиама ( $2,83 \pm 0,41$ ;  $2,7 \pm 0,45$  балла;  $t = 5,3, 5,1$ ;  $P < 0,001$ ) и контрольной группе для дозы 7 мг/кг ( $3,5 \pm 0,26$  балла;  $t = 5,6$ ;  $P < 0,001$ ) (**рис. 3А**). При этом в группе, получавшей перед ЭС карбамазепин выраженность судорожного синдрома в ответ на введение карбамазепина не менялась, что можно объяснить предварительной индукцией СУР3А4, вызывающего окисление карбамазепина до карбамазепина-10,11-эпоксида [20,21].

Леветирацетам (**рис. 3Б**) оказывал противосудорожный эффект для группы сультиама ( $3,52 \pm 0,27$ ;  $2,72 \pm 0,49$ ;  $2,72 \pm 0,36$  балла,  $t = 5,5, 4,6, 6,26$ ;  $P < 0,01$ ) и карбамазепина ( $3,64 \pm 0,18$ ;  $3,07 \pm 0,27$  балла,  $t = 7,7, 7,1$ ;  $P < 0,001$ ). В контрольной группе животных леветирацетам не вызывал достоверных изменений судорожной активности. Леветирацетам крайне ограничено подвергается печеночному метаболизму, в основном экскретируясь почками в неизменном виде [22]. В литературе имеются данные о том, что карбамазепин способен снижать плазменную концентрацию леветирацетама на 20-30% [23], однако нами не было зафиксировано достоверных отличий



**Рис. 2.** Выраженность судорожной реакции, вызванной с помощью корнеальной электростимуляции (3 мА, 50 Гц, 60 В, 3 сек.) в условиях введения противосудорожных препаратов (линии «Сультиам» и «Карбамазепин») либо интрагастрального введения водной эмульсии твин-80 (линия «Контроль»).

противосудорожных эффектов между группой карбамазепина и контрольной группой животных.

Сультиам (**рис. 3В**) оказывал выраженное дозозависимое противосудорожное действие во всех экспериментальных группах животных. В группе получавшей перед ЭС сультиам достоверный противосудорожный эффект был зафиксирован для дозы 200 и 300 мг/кг ( $1,77 \pm 0,45$ ;  $1,5 \pm 0,24$  балла;  $t = 7,2; 14,6$ ;  $P < 0,001$ ). В контрольной группе животных и в группе карбамазепина сультиам проявлял противосудорожный эффект в меньших дозах – 100 и 200 мг/кг. Метаболизм сультиама осуществляется в печени неизвестными изоформами ферментов. Несмотря на то, что имеются данные о влиянии карбамазепина на метаболизм сультиама [24], отличие в противосудорожном действии сультиама в группе карбамазепина и сультиама было незначительным ( $P > 0,05$ ).

Введение ламотриджина (**рис. 3Г**) незначительно снижало интенсивность судорог ( $4,22 \pm 0,3$ ;  $4,1 \pm 0,39$  балла), при этом достоверный противосудорожный эффект в группе карбамазепина отсутствовал. Несмотря на то, что ламотриджин метаболизируется глюкоронозилтрансферазовым семейством ферментов (UGT1A4, UGT1A1, UGT2B7) [25], карбамазепин способен снижать его плазменную концентрацию [26]. В контрольной группе животных под влиянием ламотриджина интенсивность судорожного синдрома достоверно снижалась ( $3,5 \pm 0,25$ ;  $3,25 \pm 0,27$  балла;  $t = 3,0, 3,37$ ;  $P < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем судорог. Наиболее выраженный противосудорожный эффект ламотриджина был зарегистрирован в группе сультиама ( $2,2 \pm 0,2$ ;  $1,9 \pm 0,45$  балла;  $t = 6,3, 6,9$ ;  $P < 0,001$ ). Для дозы 30 мг/кг противосудорожный эффект был достоверно ниже, чем в контрольной группе ( $t = 4,16$ ,  $P < 0,01$ ).

Введение вальпроата вызывало 20-60 % снижение интенсивности судорог по сравнению с исходным уровнем, что являлось достоверным противосудорожным эффектом для всех экспериментальных групп. Вальпроевая кислота подвергается множественным печеночным метаболическим изменениям, включающим О-глюкоронизирование, β-окисление, ω-окислительное гидроксирование, формирование кетонов, которые задействуют как семейство ферментов цитохрома P450, так и семейство

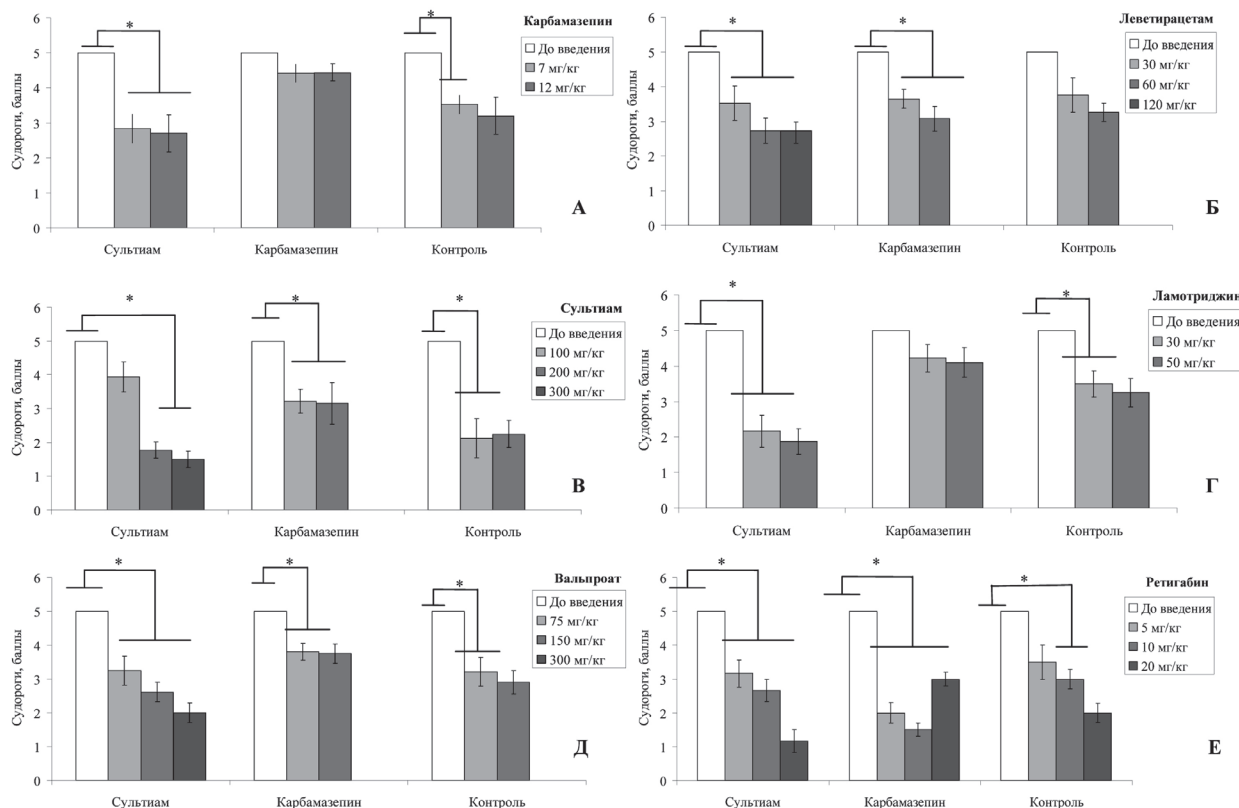


Рис. 3. Оценка противосудорожной эффективности различных противоэпилептических препаратов (А – карбамазепин, Б – леветирacetам, В – сультиам, Г – ламотриджин, Д – вальпроат, Е – ретигабин) в условиях корнеальной электростимуляции на фоне предварительного введения карбамазепина и сультиама либо плацебо у животных с сформировавшимся судорожным синдромом. Параметры стимуляции: 3 мА, 50 Гц, 60 В, 3 сек. Примечание. \* –  $P < 0.05$ .

глюкокортикоциклаза. Фармакологические взаимодействия вальпроевой кислоты с карбамазепином являются сложными и включают в себя фармакокинетический и фармакодинамический компоненты. Карбамазепин способен усиливать метаболизм вальпроата повышая концентрацию его плазменных метаболитов до гепатотоксического уровня [27], в то же время одновременное введение карбамазепина и вальпроата сопровождается заметной потенциацией противоэпилептической активности [28,29]. Наблюдавшееся нами противосудорожное действие вальпроата в группе карбамазепина достоверно не отличалось от подобного эффекта в контрольной группе, что, по видимому, связано с неодновременным, а предварительным введением карбамазепина по отношению к введению вальпроата. Для группы сультиама был отмечен дозо-зависимый противосудорожный эффект вальпроата ( $3,25 \pm 0,23$ ;  $2,6 \pm 0,43$ ;  $2,0 \pm 0,29$  балла).

Введение ретигабина (рис. 3Е) вызывало выраженный противосудорожный эффект во всех группах животных. Можно отметить сходство фармакодинамического профиля ретигабина для групп сультиама и контроля и отличие от группы карбамазепина. Фармакокинетика ретигабина включает в себя биотрансформацию под действием печеночных глюкоронилтрансфераз и одновременное ингибирование ферментов семейства цитохрома P450 [30]. Вероятно, этими свойствами можно объяснить парадоксальное снижение выраженности противосудорожной активности ретигабина при увеличении дозы до

20 мг/кг в случае группы карбамазепина ( $3,0 \pm 0,2$ ;  $t = 3,6$ ,  $P < 0,02$ , по сравнению с 10 мг/кг).

Данные относительно поведенческой активности мышей опытных групп при введении АЭП представлены в таблице.

Двигательная активность животных достоверно снижалась, по сравнению с базовым уровнем, в случае введения сультиама и ламотриджина для групп сультиама (горизонтальная активность снижалась на ~ 50 %, вертикальная активность снижалась ~ 75 %) и контроля (вертикальная активность снижалась на ~ 75-80 %). Исследовательская активность снижалась почти вдвое при введении ретигабина в группе карбамазепина.

**Обсуждение.** Использование многократно и регулярно повторяющихся корнеальных ЭС приводит к появлению судорожной реакции и постепенному нарастанию интенсивности судорожных проявлений до генерализованных клонико-тонических припадков. Эти данные соответствуют [15] и свидетельствуют о формировании устойчивого киндинга в условиях использованной модели. Коневал с соавторами [31] применили методику введения ламотриджина перед многократно повторяющимися корнеальными ЭС, что привело к формированию модели фармако-резистентных судорог к некоторым АЭП. Используя схожий подход, мы осуществляли введение карбамазепина и сультиама перед ЭС, с целью модуляции активности ферментов семейства цитохрома P450.

Проведенные исследования показали, что введение карбамазепина и сультиама не препятствуют развитию судорожной активности в условиях по-

**Изменения поведенческой активности экспериментальных животных на фоне введения различных АЭП в условиях сформированного корнеального киндлинга**

Эксперимент. группы	Горизонтальная моторная активность, пересеченные квадраты						
	Карбамазепин, 12 мг/кг	Леветирацетам, 60 мг/кг	Сультиама, 200 мг/кг	Ламотриджин, 30 мг/кг	Вальпроат, 150 мг/кг	Ретигабин, 10 мг/кг	До введения АЭП
Сультиама	42,2±5,06	39,9±5,94	21,63±3,90*	20±2,93*	27±7,43	31,3±9,05	44,3±6,3
Карбамазепин	36±3,63	38,6±6,67	23,5±5,53	29,2±4,87	30±6,75	20,5±6,59	39,5±7,2
Контроль	39±4,95	30,4±4,82	29,71±7,75	29,8±6,75	35,7±8,62	26±7,39	38,1±4,5
Вертикальная моторная активность, стойки на задних конечностях							
Сультиама	17,77778±2,89	13,5±2,41	3,778±1,91*	6,5±1,50	8,25±3,22	7,5±2,33	15,6±2,5
Карбамазепин	13,3±2,71	14±2,27	7±2,71	7,8±2,06	9,25±3,28	2,25±1,31	12,2±3
Контроль	12±2,73	8,13±2,17	3±0,94*	3,8±1,39*	8,571429±1,81	5±3,39	14,7±1,6
Исследовательская активность, время нахождения в темном отсеке ЧБК, сек.							
Сультиама	106,4444±9,38	115±14,14	102,2±16,47	135±11,36	132±16,18	118,8±15,41	97,3±12,3
Карбамазепин	107,3333±7,19	128±11,95	80,75±23,54	86,4±21,86	105,75±35,68	151,8±11,66*	84,5±10,4
Контроль	124,375±9,10	139±9,35	134,8±8,69	151±8,88	76,857±20,05	158±6,62	112,3±15,6

Примечание. \* – P < 0,05.

вторяющихся ЭС, что, по-видимому, связано с относительно низкой использованной дозой, которая, однако, достаточна для влияния на ферментативные системы. Также необходимо отметить отсутствие достоверных отличий интенсивности судорожного синдрома между контрольной группой и группой сультиама и карбамазепина при введении вальпроата, ретигабина и сультиама. Исследование различий эффективности использованных АЭП – классических (карбамазепин, вальпроат) и новых (леветирацетам, ретигабин), показали существенную разницу в выраженности противосудорожного эффекта в разных исследованных группах. Суммируя вышесказанное, можно выделить следующие новые, не известные ранее, отличия: многократное введение индуктора системы цитохрома P450, карбамазепина, сопровождаются снижением противосудорожного эффекта, как самого карбамазепина, вальпроата, так и ламотриджина. Необходимо отметить, что в некоторых случаях комбинация карбамазепина с АЭП приводит к синергичному усилению противосудорожного эффекта, например в случае совместного введения карбамазепина и тиотриазолина [32]. Многократное введение ингибитора системы цитохрома P450, сультиама, вызывало повышение противосудорожной активности ламотриджина. Также необходимо отметить, аномальное снижение эффективности ретигабина при повышении дозы с 10 мг/кг до 20 мг/кг в группе карбамазепина.

Влияние на поведенческую активность было отмечено только для сультиама и ламотриджина, снижающих двигательную активность в группах контроля и сультиама, а также ретигабина, уменьшающего исследовательскую активность у животных группы карбамазепина.

Полученные данные важны для понимания взаимодействия АЭП в условиях их сочетанного применения при фармакорезистентной эпилепсии.

**Выводы.** На экспериментальной модели корнеального киндлинга у мышей было показано влияние продолжительного введения карбамазепина и сультиама на эффективность некоторых исследуемых АЭП. С нашей точки зрения, подобное влияние объясняется способностью указанных препаратов изменять активность ферментной системы цитохрома P450, ответственной за биотрансформацию ряда АЭП (карбамазепина, вальпроата, ретигабина). Наблюдавшееся нами снижение противосудорожной активности ламотриджина на фоне длительного введения карбамазепина, по-видимому, связано с увеличением скорости его биотрансформации. Данный факт, представляет особый интерес, так как ламотриджин не метаболизируется системой цитохрома P450.

**Перспективы дальнейших исследований.** С практической точки зрения, представляют интерес полученные результаты, касающиеся изменения противосудорожной активности АЭП при длительном введении карбамазепина и сультиама, в условиях эффективной экспериментальной модели фармакорезистентной эпилепсии. Полученные данные также перспективны в клиническом аспекте, позволяя заранее оценить эффективность комбинированного использования различных АЭП при лечении судорожных синдромов. Дальнейшие исследования в данном направлении позволят создать фундаментальную теоретическую базу, которая сможет стать основой в разработке методов терапии фармакорезистентной эпилепсии.

**Литература**

1. Kwan P, Brodie MJ. Epilepsy after the first drug fails: substitution or add-on? *Seizure*. 2000;9(7):464-8.
2. Tang F, Hartz A, Bauer B. Drug-resistant epilepsy: multiple hypotheses, few answers. *Frontiers in neurology*. 2017;8:301.
3. Löscher W, Potschka H. Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs *J. Pharm. Exp. Ther.* 2002;301(1):7-14.
4. Bazilevich SN. Obektivnye faktory otnositelnoj i vozmozhnye prichiny istinnoj farmakorezistentnosti u bolnyh epilepsiej. *Vestnik rossijskoj voenno-medicinskoj akademii*. 2009;2:118-23. [in Russian].
5. Nogueira MH, Yasuda CL, Coan AC, Kanner AM, Cendes F. Concurrent mood and anxiety disorders are associated with pharmacoresistant seizures in patients with MTLE. *Epilepsia*. 2017;58(7):1268-76.
6. Begley CE, Durgin TL. The direct cost of epilepsy in the United States: a systematic review of estimates. *Epilepsia*. 2015;56(9):1376-87.
7. Devinsky O, Spruill T, Thurman D, Friedman D. Recognizing and preventing epilepsy-related mortality: a call for action. *Neurology*. 2016;86(8):779-86.

8. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010;51(6):1069-77.
9. Ghosh C, Puvenna V, Gonzalez-Martinez J, Janigro D, Marchi N. Blood-brain barrier P450 enzymes and multidrug transporters in drug resistance: a synergistic role in neurological diseases. *Cur. Drug Metab.* 2011;12(8):742-9.
10. Emich-Widera E, Likus W, Kazek B, Niemiec P, Balcerzyk A, Sieroń AL, et al. CYP3A5\* 3 and C3435T MDR1 polymorphisms in prognostication of drug-resistant epilepsy in children and adolescents. *BioMed Res. Internat.* 2013;2013.
11. Walzer M, Bekersky I, Blum RA, Tolbert D. Pharmacokinetic drug interactions between clobazam and drugs metabolized by cytochrome P450 isoenzymes. *Pharmacotherapy: J. Hum. Pharm. Drug Ther.* 2012;32(4):340-53.
12. Ke XJ, Cheng YF, Yu N, DiQ. Effects of carbamazepine on the P-gp and CYP3A expression correlated with PXR or NF-κB activity in the bEnd. 3 cells. *Neuroscien. Let.* 2019;690:48-55.
13. Peigné S, Rey E, Le Guern ME, Dulac O, Chiron C, Pons G, et al. Reassessment of stiripentol pharmacokinetics in healthy adult volunteers. *Epilepsy research.* 2014;108(5):909-16.
14. Potschka H, Löscher W. Corneal kindling in mice: behavioral and pharmacological differences to conventional kindling. *Epilepsy research.* 1999;37(2):109-20.
15. Barton ME, Klein BD, Wolf HH, White HS. Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy. *Epilepsy research.* 2001;47(3):217-27.
16. Barker-Haliski ML, Vanegas F, Mau MJ, Underwood TK, White HS. Acute cognitive impact of antiseizure drugs in naive rodents and corneal-kindled mice. *Epilepsia.* 2016;57(9):1386-97.
17. Hock FJ, ed. *Drug discovery and evaluation: Pharmacological assays*. 4th ed. Springer International Publishing 2016. 4239 p.
18. Glantz SA. *Primer of Biostatistics*. 4th ed. McGraw-Hill Inc., New York; 1997. 473 p.
19. Reeta KH, Mehla J, Pahuja M, Gupta YK. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions of valproate, phenytoin, phenobarbitone and carbamazepine with curcumin in experimental models of epilepsy in rats. *Pharmac. Biochem. Behav.* 2011;99(3):399-407.
20. Bertilsson L, Höjer B, Tybring G, Osterloh J, Rane A. Autoinduction of carbamazepine metabolism in children examined by a stable isotope technique. *Clinic. Pharmac. Therap.* 1980;27(1):83-8.
21. Kudriakova TB, Sirota LA, Rozova GI, Gorkov VA. Autoinduction and steady-state pharmacokinetics of carbamazepine and its major metabolites. *Brit. J. Clin. pharmac.* 1992;33(6):611-5.
22. Patsalos PN, Ghattaura S, Ratnaraj N, Sander JW. In situ metabolism of levetiracetam in blood of patients with epilepsy. *Epilepsia.* 2006;47(11):1818-21.
23. Freitas-Lima P, Alexandre JrV, Pereira LRL, Feletti F, Perucca E, Sakamoto AC. Influence of enzyme inducing antiepileptic drugs on the pharmacokinetics of levetiracetam in patients with epilepsy. *Epilepsy Res.* 2011;94(1-2):117-20.
24. May TW, Korn-Merker E, Rambeck B, Boenigk HE. Pharmacokinetics of sulthiame in epileptic patients. *Therap. Drug Monitor.* 1994;16(3):251-7.
25. Rambeck B, Wolf P. Lamotrigine clinical pharmacokinetics. *Clinic. pharmacokin.* 1993;25(6):433-43.
26. Weintraub D, Buchsbaum R, Resor SR, Hirsch LJ. Effect of antiepileptic drug comedication on lamotrigine clearance. *Arch. Neurol.* 2005;62(9):1432-6.
27. Levy RH, Rettenmeier AW, Anderson GD, Wilensky AJ, Friel PN, Baillie TA, et al. Effects of polytherapy with phenytoin, carbamazepine, and stiripentol on formation of 4-ene-valproate, a hepatotoxic metabolite of valproic acid. *Clin. Pharmac. Therap.* 1990;48(3):225-35.
28. Brodie MJ, Mumford JP. Double-blind substitution of vigabatrin and valproate in carbamazepine-resistant partial epilepsy. *Epilepsy Res.* 1999;34(2-3):199-205.
29. Shandra A, Shandra P, Kaschenko O, Matagne A, Stöhr T. Synergism of lacosamide with established antiepileptic drugs in the 6-H z seizure model in mice. *Epilepsia.* 2013;54(7):1167-75.
30. Patsalos PN. Drug interactions with the newer antiepileptic drugs (AEDs) – part 1: pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between AEDs. *Clin. pharmacokin.* 2013;52(11):927-66.
31. Koneval Z, Knox KM, White HS, Barker-Haliski M. Lamotrigine-resistant corneal-kindled mice: A model of pharmacoresistant partial epilepsy for moderate-throughput drug discovery. *Epilepsia.* 2018;59(6):1245-56.
32. Opryshko VI. Issledovanie vzaimodejstviya karbamazepina i tiotriazolina na modeli farmakorezistentnoj epilepsii. *Zaporozh. med. zh.* 2008;4:31-5. [in Russian].

## ВПЛИВ ПРОТІЕПІЛЕПТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА СУДОМНУ АКТИВНІСТЬ В УМОВАХ КОРНЕАЛЬНОГО КІНДЛІНГУ У МИШЕЙ ТА МОДУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТИ СИСТЕМИ ЦИТОХРОМУ P450

Бойко Ю. О., Танцура Є. О.

**Резюме.** Метою роботи було вивчення фармакодинаміки антиепілептичних препаратів в умовах сформованого кіндлінг-синдрому при попередньому введенні протисудомних речовин, що впливають на систему цитохрому P450.

Кіндлінг-синдром у мишей викликали шляхом багаторазово повторюваної корнеальної електростимуляції при одночасному введенні карбамазепіну і сультіаму. Після розвитку стійкого генералізованого кіндлінг-синдрому проводили дослідження протисудомної активності сультіаму, леветірацетаму, карбамазепіну, вальпроату, ламотриджину і ретігабіну.

Попереднє введення карбамазепіну суттєво знижувало виразність його протисудомної активності при подальшому прийомі. Введення ламотриджину забезпечувало істотний протисудомний ефект в групі сультіаму, в групі карбамазепіну вірогідна протисудомна дія відсутня. Багаторазове введення сультіаму супроводжувалося достовірним протисудомним ефектом у всіх групах, проте найбільшим він був у групі, що попередньо одержувала сультіам (1,5-1,77 бали). Фармакодинаміка вальпроату була подібна з фармакодинамікою сультіаму.

Попереднє введення карбамазепіну, який є індуктором цитохрому P450, призводить до ослаблення протисудомної активності препаратів, що метаболізуються даною ферментною системою (карбамазепін, вальпроат) і формування фармакологічної резистентності до дії зазначених препаратів. Також вперше було показано зниження протисудомної активності ламотриджину в умовах попереднього введення карбамазепіну. Сультіам, що пригнічує активність системи цитохрому P450, навпаки, збільшував протисудомний ефект ламотриджину.

Отримані дані мають важливе значення для розуміння механізмів взаємодії антиепілептичних препаратів в умовах комбінованого застосування.

**Ключові слова:** фармакорезистентна епілепсія, корнеальний кіндлінг, сультіам, карбамазепін.

**ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СУДОРОЖНУЮ АКТИВНОСТЬ В УСЛОВИЯХ КОРНЕАЛЬНОГО КИНДЛИНГА У МЫШЕЙ И МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450**

**Бойко Ю. А., Танцура Е. А.**

**Резюме.** Целью работы было изучение фармакодинамики антиэпилептических препаратов в условиях сформированного киндлинг-синдрома при предварительного введения противосудорожных веществ воздействующих на систему цитохрома P450.

Киндлинг-синдром у мышей вызывали путем многократно повторяющейся корнеальной электростимуляции при одновременном введении карбамазепина и сультиама. После развития устойчивого генерализованного киндлинг-синдрома проводили исследование противосудорожной активности сультиама, леветирацетама, карбамазепина, вальпроата, ламотриджина и ретигабина.

Предварительное введение карбамазепина существенно снижало выраженность его противосудорожной активности при последующем приеме. Введение ламотриджина давало существенный противосудорожный эффект в группе сультиама, в группе карбамазепина достоверное противосудорожное действие отсутствовало. Многократное введение сультиама сопровождалось достоверным противосудорожным эффектом во всех группах, однако наибольшим он был в группе предварительно получавшей сультіам (1,5-1,77 балла). Фармакодинамика вальпроата была схожей с фармакодинамикой сультиама.

Предварительное введение карбамазепина, который является индуктором системы цитохрома P450, приводит к ослаблению противосудорожной активности препаратов метаболизируемых данной ферментной системой (карбамазепин, вальпроат) и формированию фармакологической резистентности к действию указанных препаратов. Также впервые было показано снижение противосудорожной активности ламотриджина в условиях предварительного введения карбамазепина. Сультіам, подавляющий активность системы цитохрома P450, напротив, увеличивал противосудорожный эффект ламотриджина.

Полученные данные имеют важное значение для понимания механизмов взаимодействия антиэпилептических препаратов в условиях комбинированного применения.

**Ключевые слова:** фармакорезистентная эпилепсия, корнеальный киндлинг, сультіам, карбамазепин.

**THE EFFECT OF ANTIEPILEPTIC DRUGS ON CONVULSIV ACTIVITY ANDER CONDITIONS OF CORNEAL KINDLING IN MICE AND MODULATION OF THE ACTIVITY OF CYTOCHROME P450 ENZYMES**

**Boiko Y. A., Tantsura Y. A.**

**Abstract.** Pharmacoresistant epilepsy refers to forms of epilepsy that are poorly therapeutic and its pathogenetic mechanisms are not well understood.

The purpose of this work was to study the pharmacodynamics of anti-epileptic drugs in the conditions of the established Kindling syndrome against the background of the prior introduction of anticonvulsant substances acting on the cytochrome P450 system.

The work was carried out on white outbred mice-males. Kindling syndrome was caused by repeated corneal electrostimulation. Simultaneously with the formation of Kindling syndrome, intragastric administration of carbamazepine and sultiam was performed as an activator and inhibitor of the cytochrome P450 system, respectively. After the development of persistent convulsive syndrome with an intensity of at least 5 points in all animals, the study of the anticonvulsant activity of the following drugs – sultiam, levetiracetam, carbamazepine, valproate, lamotrigine, retigabine – was conducted. Also investigated the behavioral activity of experimental animals in the test «Open field» and «Black and white camera».

We have shown that the preliminary administration of carbamazepine for 17 days seriously reduces its anticonvulsant activity upon subsequent administration. Preliminary administration of sultiam, on the contrary, increased the anticonvulsant effect of subsequent administration of carbamazepine (2.7-2.8 points). The introduction of lamotrigine gave a significant anticonvulsant effect in the group of sultiam, in the group of carbamazepine a significant anticonvulsant effect was absent. The introduction of sultiam caused a significant anticonvulsant effect in all groups, however, it was the greatest in the group previously treated with sultiam (1.5-1.77 points). The pharmacodynamics of valproate was similar to pharmacodynamic sultiam. For levetiracetam and retigabine, non-targeted results were obtained, which are likely to be related to the pharmacokinetics of these drugs. The effect on behavioral activity was provided by sultiam and lamotrigine (a decrease in horizontal and vertical motor activity), as well as retigabine (an increase in research activity).

Preliminary administration of carbamazepine, which is an inducer of the cytochrome P450 system, leads to a weakening of the anticonvulsant activity of drugs metabolized by this enzyme system (carbamazepine, valproate) and the formation of pharmacological resistance to the action of these drugs. Also for the first time, a decrease in the anticonvulsant activity of lamotrigine was shown under conditions of prior administration of carbamazepine. Sultiam, which suppresses the activity of the cytochrome P450 system, on the contrary, increased the anticonvulsant effect of lamotrigine.

The obtained data are important for understanding the mechanisms of interaction of antiepileptic drugs under combined use.

**Key words:** pharmacoresistant epilepsy, corneal kindling, sultiam, carbamazepine.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 09.05.2019 року*