

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ІНСТИТУТ імені М. І. ПИРОГОВА

---

На правах рукопису

**ІВАНОВ Валерій Іванович**

**ЗАСТОСУВАННЯ ТОРФОТУ У КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ЕПІЛЕПСІЇ  
(експериментальне дослідження)**

14.00.25 - фармакологія

**А в т о р е ф е р а т**  
дисертації на здобуття наукового  
ступеня кандидата біологічних наук

**О д е с а - 1 9 9 4**

Робота виконана в лабораторії фармакології Українського науково-дослідного інституту очних хвороб та тканинної терапії імені В. П. Філатова та на кафедрі нормальної фізіології Одеського медичного інституту імені М. І. Пирогова.

Наукові керівники - доктор біологічних наук, професор,  
заслужений діяч науки і техніки України  
В. П. СОЛОВЬОВА  
- доктор медичних наук, професор  
О. А. ШАНДРА

Офіційні опоненти - доктор медичних наук, старший науковий  
співробітник І. М. МОІСЄЄВ  
- кандидат медичних наук, старший науковий  
співробітник В. С. ПОНОМАРЧУК

Провідна установа - Український науково-дослідний інститут курортології та медичної реабілітації

Захист відбудеться " 23 " 06 1994 року в 15  
годин на засіданні Спеціалізованої ради Д 05.04.02 при Одеському  
медичному інституті імені М. І. Пирогова (270100, Одеса, вул. Ака-  
деміка Павлова, 4, аудиторія N1).

Автореферат розісланий " 23 " 05 1994 року.  
З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці інститута.

Вчений секретар Спеціалізованої ради  
доктор медичних наук

Л. С. Годлевський

ЛННБ України ім. В. Стефаніка



00777602 (Т)

ЛННБ України  
ім. В. Стефаніка

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Медикаментозна терапія епілепсії, яка здійснюється теперішнім часом, не дозволяє знизити поширення цієї хвороби. Даний показник у різних країнах складає від 2.0 до 5.0%. Характер клінічних проявів епілепсії, тенденція до хронічного перебігу хвороби, терапевтична резистентність до терапії, що проводиться, значний показник зниження працездатності та фахової придатності серед хворих на епілепсію дозволяє віднести цю хворобу до тяжких психоневрологічних розладнань, боротьба з якими вимагає першочергової уваги. За даними ВОЗ, медикаментозна терапія епілепсії з застосуванням синтетичних фармакологічних препаратів різних класів (барбітурати, похідні гідантоїну, карбамазепін, бензодіазепіни та ін.) приводить до значного зниження епілептичних проявів лише у 50 - 75% хворих. Разом з тим, тривале фармакологічне лікування хворих на епілепсію супроводжується розвитком багаточисельних ускладнень та побічних ефектів (А. И. Болдырев, 1984; В. М. Рачков, Ф. А. Федоренкова, 1987; В. А. Карлов, 1990; M. J. Brodie, 1990; M. Dam, 1990; S. J. Johannessen et al., 1990; P. N. Patsalos, 1991; J. Pelekanos et al., 1991; R. E. Ramsay, J. D. Slater, 1991; M. S. Yerby, 1991). 20% хворих на епілепсію нечутливі до фармакологічної терапії (В. А. Карлов, 1990; Д. К. Камбарова, 1992; J. S. Duncan, 1989). Ось чому розробка нових оптимальних методів терапії епілепсії, які мають виражену протиепілептичну дію при мінімальному вияві побічних ефектів, є актуальним завданням, що має велике медичне, економічне та соціальне значення.

Дослідженнями Г. М. Крижановського та його співробітників (1980-1993) доведено, що у суті виникнення та розвитку різноманітних форм епілептичного синдрому лежить формування гіперактивної епілептичної системи, функціональні ефекти якої, залежно від модальності нейрональних утворень, які залучено до її структури, визначають вираженість синдрому, що розвивається. Встановлена закономірність виникнення, перебігу та розпаду подібної системи дозволила визначити принципові напрямки терапії епілепсії (Г. Н. Крыжановский, 1980; Г. Н. Крыжановский и др., 1992; А. А. Шандра, 1985; Л. С. Годлевский, 1992). Одним з напрямків в реалізації лікувальних впливів при цій хворобі є опрацьований метод комплексної патогенетичної терапії (КПТ). Даний підхід поля-

гає у використанні фармакологічних агентів, дію яких спрямовано на корекцію різних нейромедіаторних порушень, що існують у суті формування детермінанти епілептичного синдрому, а також у формуванні залежних ділянок гіперактивної епілептичної системи. В умовах подібного поєднання відповідних препаратів виникає можливість потенціювання їх протиепілептичних ефектів, а також зниження дози синтетичних протиепілептичних препаратів, що запобігає виникненню побічних ефектів при лікуванні хворих епілепсією (Г. Н. Крыжановский, 1980; А. А. Шандра, 1985). Однією із істотевих особливостей методу КПТ епілептичного синдрому є використання природних метаболічних препаратів, що забезпечують активацію захисно-присосовних механізмів мозку - утворень антиепілептичної системи (Г. Н. Крыжановский и др., 1992; А. А. Шандра, 1985; Л. С. Годлевский, 1992).

У дослідженнях О. А. Шандри (1985-1993) було досліджено основні принципи КПТ. Отримані дані щодо застосування сполучень протиепілептичних та вітамінних препаратів за рівних умов епілептизації мозку свідчать про доцільність розвитку методу КПТ на основі використання біогенних субстанцій, фармакотерапевтичний ефект яких пов'язаний із стимуляцією захисних резервів організму при відсутності побічної дії. Таким вимогам відповідають тканинні препарати, що були розроблені академіком В. П. Філатовим. Вони являють собою неспецифічні адаптогени, лікувальна дія яких обумовлена стимуляцією захисно-присосовних механізмів як на рівні клітин, так і органів, тканин та систем організму (В. П. Соловьева и др., 1986; В. П. Сотникова, 1990).

Доцільність вивчення протиепілептичних ефектів тканинних препаратів підтверджується тим фактом, що до їх складу входять оригінальні комплекси натуральних, біологічно високоактивних субстанцій. Можливо припустити, що саме тканинні препарати вже в собі реалізують принцип КПТ - сумачію та потенціювання дії окремих активних компонентів. Подібне припущення підтверджується роботами багатьох авторів, які протягом певного часу застосовували тканинні препарати та відмічали їх значну лікувальну дію при різних хворобах (Н. А. Пучковская, 1975; Н. И. Шпак, 1983; Л. Т. Кашинцева, 1983; К. А. Великанов, 1983; В. А. Соляник-Шлейко и др., 1986; Ю. Л. Курако, 1986).

Серед препаратів, що належать до біогенних стимуляторів, особливе місце займає торфот. Особливість цього препарату поля-

гає у його здатності спричиняти розсмоктувальну та протиапатальну дію (А. П. Кулеш, 1957; Я. Галацкая, 1980), стабілізуючий вплив на біоелектрогенез збудливих тканин (Т. Г. Желяєва, 1980; Юрін, 1983), а також в значній позитивній властивості знизити активність ферментів тканинного дихання клітин мозку при розвитку стресу (Я. В. Рожковський, 1988). Такі оригінальні специфічні властивості торфоту були основою для експериментального вивчення його протиепілептичної дії, тим більше, що до теперішнього часу систематизованих досліджень у цьому напрямі не проводилося. У перспективі позитивні результати щодо вивчення дії торфоту на епілептичну активність (ЕПА) в умовах рівних експериментальних моделей у тварин та в'ясування механізму його протисудорожних ефектів можуть бути використані для обґрунтування впровадження цього препарату до комплексної патогенетичної терапії епілепсії.

Мета і завдання дослідження. Метою даного дослідження стало в'ясування протиепілептичних властивостей торфоту як при самостійному застосуванні в умовах рівних форм епілептичного синдрому, так і в поєднанні з протисудорожними препаратами. Досягнення цієї мети здійснювалося шляхом розв'язання таких завдань.

1. Дослідити дію торфоту та його поєднання з протисудорожними препаратами (фенобарбітал, діфенілгідантоїн, карбамазепін, діазепам і вальпроат натрію) в умовах гострої генералізованої ЕПА, індукованої різними конвульсантами.

2. Вивчити дію торфоту на вогнища ЕПА, індуковані у корі головного мозку шурів під впливом натрієвої солі бензілпеніциліну.

3. Дослідити вплив торфоту та його сполучень з протисудорожними субстанціями в умовах хронічної епілептизації мозку при коразоловому кіндлінзі у мишей.

4. Вивчити вплив торфоту та його сполучень з протисудорожними препаратами в умовах хронічної епілептизації мозку при пікротоксин-індукованому кіндлінзі у шурів.

5. Дослідити впливи торфоту на ЕПА у шурів з внутрішнь-огіпокампульним застосуванням крові при здійсненні коразолвикликаного кіндлінгу.

Наукова новизна досліджень. Доказана протиепілептична дія курсового застосування торфоту в умовах гострих генералізованих

судорог, викликаних різними епілептогенами (коразол, пікротоксин, бікукулін, стрихнін, тіосемікарбазід). Вперше встановлено підсилення протиепілептичної дії фенобарбіталу, карбамазепіну, діазепаму і вальпроату натрію в умовах гострих судорог, індукованих різними епілептогенами. Найбільш виражений ефект потенціювання виявлено при сполученні торфоту з фенобарбіталом і діазепамом. В умовах вогнищевої ЕПА встановлена пряма антиепілептична дія торфоту при його нанесенні на зону епілептогенезу. Вперше на моделі фармакологічного кіндлінга - хронічної ЕПА, яка індукована у тварин застосуванням різних епілептогенів (коразол, пікротоксин) встановлена протиепілептична активність торфоту і експериментально обгрунтовано раціональну схему його використання. Вірогідність ефекту торфота підтверджено результатами експерименту на оригінальній моделі посттравматичної епілепсії, яка відтворювалась внутрішньогіпокампульним застосуванням лізованої гомокрові.

Теоретична та практична цінність роботи. В експериментальних умовах встановлено антиепілептичні ефекти торфоту в умовах вогнищевої, генералізованої, хронічної та посттравматичної ЕПА. Розкрито механізми здійснення протисудорожних ефектів препарату. Результати досліджень являють собою експериментальне обгрунтування для клінічної апробації торфоту в комплексній патогенетичній терапії епілепсії. В ході експериментальних досліджень було удосконален метод кріплення роз'єму на черепі щура для внутрішньомозкових електродів. Отримано авторське свідоцтво №1695901 "Прилад для фіксації електродного роз'єму на голові тварини". Розроблено і виконано апробацію в експериментальних умовах нового матеріалу для поліпшення ізоляційних властивостей внутрішньомозкових електродів.

Положення, що виносяться на захист.

1. Протиепілептична дія торфоту при моделюванні гострих генералізованих судорог, викликаних такими епілептогенами, як коразол, пікротоксин, тіосемікарбазід, стрихнін і бікукулін.
2. Потенціюючий вплив торфоту на протисудорожні препарати (фенобарбітал, діфенілгідантоїн, карбамазепін, діазепам і вальпроат натрію) в умовах гострих генералізованих судорог, викликаних коразолом та пікротоксином.

3. Запівнюючий вплив торфоту на розвиток коркових фокальних епілептиформних потенціалів, викликаних аплікацією пеніциліну.

4. Протисудорожна дія торфоту в умовах формування коразол-та пікротоксин-індукованого кіндлінга.

5. Потенціюючий вплив торфоту на специфічні протисудорожні препарати (фенобарбітал, діфенілгідантоїн, карбамазепін, діазепам і вальпроат натрію) в умовах хронічної епілептизації мозку (коразол- і пікротоксин-індукований кіндлінг).

6. Протисудорожна дія торфоту в умовах посттравматичної епілептизації мозку, що викликано введенням гомокрові в гіпокамп з наступною активацією шляхом коразол-індукованого кіндлінгу.

Апробація роботи. Матеріали дисертації доповідались на республіканській науковій конференції (Одеса, 1983), VII з'їзді офтальмологів України (Одеса, 1984), науковій офтальмологічній конференції з участю іноземних спеціалістів (Одеса, 1986), XII з'їзді Українського фізіологічного товариства імені І. П. Павлова (Львів, 1986), засіданні кафедри патологічної фізіології Одеського медичного інституту імені М. І. Пирогова (Одеса, 1987), VIII Міжнародному конгресі по торфу (Ленінград, 1988), міжнародній науковій конференції (Воровськ, 1990), VI з'їзді фармакологів України (Харків, 1990), всесоюзному симпозіумі (Кишинів, 1990), VII міжнародній конференції офтальмологів (Одеса, 1993), на засіданні Вченої ради Українського НДІ очних хвороб та тканинної терапії імені В. П. Філатова.

Обсяг і структура дисертації. Робота складається з вступу, огляду літератури, опису методик досліджень, 4 розділів власних досліджень, заключення та висновків. Загальний обсяг дисертації складає 222 сторінки машинописного тексту. Ілюстративний матеріал подано 14 таблицями та 24 малюнками. Показчик літератури містить 307 джерел, з них 174 - іноземних.

#### **МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Дослідження проведено в умовах гострого та хронічного експерименту на 357 білих щурах лінії Вістар масою 200-300 г, 950 мишах лінії BALB/C та безпородних білих мишах масою 18-20 г. Операційну підготовку тварин, стереотаксичну імплантацію реєструючих електродів в структури мозку здійснювали за загальноприй-

нятою методикою (М. Я. Волошин, 1987; Я. Буреш и др., 1991). Реєстрацію електричної активності проводили монополярно на чорнильно-пищучому електроенцефалографі 4-ЗЭГ-3 та на фотоплівці за допомогою фотореєстратора "ФОР". Індиферентний електрод було закріплено в носових кістках черепа.

Для вивчення ефектів торфоту використовували моделі фокальної, гострої генералізованої ЕпА, а також фармакологічний кіндлінг та модель посттравматичної епілепсії.

Вогнища ЕпА було індуковано в корі головного мозку щурів за допомогою локальної аплікації натрієвої солі бензілпеніциліну (0.3%, 0.4%, 0.7%, 1.0% та 1.3%). Враховували латентний період появи спайкових розрядів, динаміку частоти та амплітуди епілептиформних потенціалів, тривалість існування вогнищ. Одиночні інтеріктальні пікові розряди у щурів викликали шляхом аплікації на сенсомоторні ділянки кори головного мозку натрієвої солі бензілпеніциліну в концентрації 1.0%. Гострі генералізовані судороги відтворювали у мишей шляхом внутрішньочеревного застосування коразолу (70 мг/кг), пікротоксину (4.0 мг/кг), бікукуліну (3.5 мг/кг), стрихніну (1.5 мг/кг) та тіосемікарбазиду (20 мг/кг). Судорожні прояви у тварин реєстрували візуально та оцінювали за бальною системою: 0 балів - відсутність судорожних реакцій; 1 бал - судорожні здригання або швидкий біг; 2 бали - клонічні судороги; 3 бали - виражені клоніко-тонічні випадки з падінням тварин на бік і точічною екстензією задніх кінцівок; 4 бали - смертельні клоніко-тонічні судороги або багаторазові падіння тварини на бік (Е. А. Захарія, 1974).

Фармакологічний кіндлінг формували у мишей внутрішньочеревним застосуванням коразолу протягом 20 діб в субконвульсивній (30 мг/кг) дозі (А. А. Шандра и др., 1983, 1987), у щурів - внутрішньочеревним застосуванням пікротоксину в підпороговій (1.0 мг/кг) дозі таким самим чином (А. А. Шандра и др., 1991). Конвульсанти вводили за стандартних умов, в один і той самий час, у приміщенні з однаковою освітленістю та гамовим фоном. Визначали латентний період перших судорожних проявів, генералізованих клоніко-тонічних приступів та інтенсивність кіндлінгвикликаних судорог. Важкість судорожних реакцій оцінювали за 6-бальною шкалою: 0 балів - відсутність судорожної реакції; 1 бал - міоклонічні здригання голови або тулуба; 2 бали - клонічні судороги м'язів тулуба та кінцівок; 3 бали - підйом на

задні кінцівки ("поза кенгуру"), повторні клонуси м'язів передніх кінцівок; 4 бали - генералізовані клоніко-тонічні судороги з падінням тварин на бік, вегетативними розладами та постприступною депресією; 5 балів - смертельні судороги або повторні генералізовані клоніко-тонічні припадки (А. А. Шандра, 1985; А. А. Шандра и др., 1983; Г. Н. Крыжановский и др., 1988, 1989). В окремі серії експериментів вивчали ефекти торфоту на моделі посттравматичної епілепсії, яка була викликана у щурів білатеральними внутрішньогіпокампальним застосуванням 5.0 мкл лізованої гомокрові, що була взята із хвостової вени щурів-донорів. Коразол вводився через 24 доби після мікроін'єкції гомокрові.

Ефекти потенціювання протисудорожної дії при застосуванні торфоту вивчали при його сумісному вживанні з групою антиепілептичних субстанцій. Препарати цієї групи - фенобарбітал (10 мг/кг), діфенілгідантоїн (70 мг/кг), карбамазепін (40 мг/кг), діазепам (0.1 мг/кг) та вальпроат натрію застосовували внутрішньочеревно у свіжеприготовленій суспензії з Твіном-80.

Торфот (ампульна форма) застосовували внутрішньочеревно в обсягах 0.2 та 0.5 мл протягом 3, 7, 14, 21 діб, а при вивченні ефектів препарату на інтеріктальні вогневищеві розряди його було застосовано в об'ємі 0.2 - 0.5 мл. В окремі серії досліджень торфот було апліковано на поверхню кори головного мозку щурів. Тваринам контрольних груп в аналогічних умовах застосовували ізотонічний розчин NaCl. Наприкінці кожного дослідження здійснювали контрольну гістологічну верифікацію локалізації електродів, кауль та зон пошкодження.

Результати експерименту підлягали непараметричним та варіаційним методам статистичного аналізу, загальноприйнятим в медикобіологічних дослідженнях (Сепетлиев Д., 1968; А. И. Венчиков и соавт., 1974; Г. Ф. Лакин, 1980; Я. Буреш и др., 1991). Статистичну обробку проводили на ЕОМ ЕС-1840 в операційній системі М-86 та MS-DOS.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ<sup>1</sup>.

### 1. Вплив індивідуального та сумісного застосування торфоту з специфічними протисудорожними препаратами на гострі генералізовані судороги.

Перший етап роботи було присвячено вивченню впливу торфоту на розвиток гострих генералізованих судорог, які були викликані епілептогенами з різними механізмами порушення гальмувальних процесів в ЦНС (коразол, пікротоксин, бікукулін, стрихнін, тіосемікарбазід). На моделі гострих генералізованих судорог, викликаних коразолом (70 мг/кг), було встановлено, що повторні застосування торфоту (від 10 до 21) подовжували латентний період перших судорог на 49- 70% ( $P < 0.001$ ), зменшували важкість судорог на 25- 28% ( $P < 0.01$ ) та зменшували летальність тварин на 64- 69% ( $P < 0.01$ ) порівняно до контролю. Нетривале застосування торфоту (1- 7 діб) не давало позитивного ефекту. Приведені дані показують, що в умовах гострих генералізованих коразол- індукованих судорог виражена протисудорожна дія торфоту спостерігається тільки при його курсовому застосуванні.

При вивченні впливу курсового застосування торфоту на гострі генералізовані судороги, які були викликані пікротоксином (4.0 мг/кг) у мишей, спостерігали аналогічний характер дії. В умовах повторних застосувань торфоту (10- 21 ін'єкцій) подовжувався латентний період розвитку перших судорог на 38- 46% ( $P < 0.001$ ) та повністю запобігалась загибель тварин в досліджуваній групі. За даних умов у досліджуваних тварин спостерігались лише міоклонічні адригання та клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок, а важкість судорог було зменшено у порівнянні з контрольними тваринами на 41- 49% ( $P < 0.001$ ). Результати проведених досліджень свідчать про виражену протисудорожну дію курсового застосування торфоту в умовах гострих генералізованих судорог, викликаних пікротоксином.

---

<sup>1</sup> Автор висловлює щиро вдячність директорові НДІ Загальної патології та патофізіології Російської АМН академіку РАНН Г.М. Крижановському за постійну підтримку вибраного напрямку досліджень та консультативну допомогу.

Попередні ін'єкції торфоту не змінювали вираженість гострих генералізованих судорог, викликаних у мишей бікукуліном. Так, після 15 щоденних застосувань торфоту важкість судорог складала  $3.0 \pm 0.3$ , а в контрольній групі тварин -  $3.5 \pm 0.4$  ( $P > 0.05$ ). Але, повторні застосування торфоту збільшували латентний період перших судорог на 128% у порівнянні з контрольною групою тварин ( $P < 0.001$ ).

На моделі гострих генералізованих судорог, які були викликані стрихніном, попереднє курсове застосування торфоту сприяло подовженню латентного періоду перших судорожних реакцій на 120-150% ( $P < 0.001$ ) та зниженню важкості судорог на 18-25% ( $P < 0.01$ ).

В умовах гострих генералізованих судорог, викликаних тіосемікарбазідом, повторні застосування торфоту подовжували латентний період перших епілептиформних реакцій лише на 10-12% ( $P > 0.05$ ) та знижали їх важкість на 14-18% ( $P < 0.01$ ).

Сумарні результати даної частини досліджень свідчать про виражену протисудорожну дію торфоту в умовах гострих генералізованих судорог, викликаних конвульсантами з різними механізмами стимуляції епілептогенезу. Максимальний захисний ефект торфоту спостерігався при індукції гострих судорог при використанні коразолу та пікротоксину. Про це свідчать показники подовження латентного періоду перших судорожних реакцій, запобігання розвитку генералізованих судорог та зниження процента загибелі тварин.

Завданням наступної серії експериментальних досліджень було вивчення впливів протиепілептичних препаратів на фоні попереднього застосування торфоту в умовах гострих генералізованих судорог.

Встановлено потенціювання протиепілептичної дії фенобарбіталу, діфенілгідантоїну, карбамазепіну, діазепаму та вальпроату натрію під впливом торфоту, що виявилось у подовженні на 28-50% латентного періоду перших судорожних проявів ( $P < 0.001$ ) та зменшенні (на 26-49%) їх інтенсивності ( $P < 0.01$ ). Аналогічні ефекти потенціювання протисудорожної дії фенобарбіталу, діфенілгідантоїну, карбамазепіну, діазепаму та вальпроату були отримані при сумісному застосуванні торфоту та зазначених препаратів в умовах гострих генералізованих пікротоксин - індукованих судорог ( $P < 0.002$ ).

При індукції гострих генералізованих судорог бікукуліном в тих самих умовах спостерігається посилення протиепілептичної

дії фенобарбіталу та діазепаму, що виявляється в подовженні латентного періоду перших судорог на 14- 25% ( $P < 0.01$ ) та зниженні на 33- 45% ( $P < 0.001$ ) їх важкості. До особливостей даного ефекту слід віднести такий факт, що для його розвитку необхідне порівняно тривале застосування торфоту (не менше, ніж 14 ін'єкцій).

Курсове застосування торфоту (3-21 ін'єкція) не впливає на вираженість протиепілептичної дії фенобарбіталу, діфенігідантоїну, карбамазепіну, діазепаму та вальпроату в умовах стрихнініндукованих судорог.

Під впливом курсового (14 ін'єкцій) застосування торфоту посилюється протиепілептична дія фенобарбіталу та діазепаму в умовах індукції судорог тіосемікарбазідом, що виявилось у зменшенні важкості судорожних реакцій ( $P < 0.05$ ).

Таким чином, на підставі наведених експериментальних досліджень встановлено принципову можливість потенціювання торфотом специфічної дії протисудорожних препаратів - фенобарбіталу, діфенігідантоїну, карбамазепіну, діазепаму та вальпроату в умовах гострих генералізованих судорог, викликаних різними конвульсантами. Найбільш виражений ефект потенціювання дії всіх зазначених протиепілептичних препаратів спостерігався після 7 застосувань торфоту в умовах коразол-індукованих судорог. На моделі генералізованих пікротоксин-викликаних судорог під впливом торфоту було отримано аналогічний ефект за винятком сполучення із вальпроатом. Препарат торфот в умовах дослідів не впливав на дію протисудорожних препаратів при індукції судорог стрихніном. Найбільш виражене вибіркове потенціювання протиепілептичної дії фенобарбіталу та діазепаму під впливом торфоту спостерігалось як при коразол-, так і при пікротоксин-індукованих судорогах.

Отримані результати, розкриваючи одну із ділянок механізму дії торфоту, дозволяють припускати його модулюючий вплив на бензодіазепін- ГАМК-іонофорний комплекс. Саме такі ефекти складають суть механізму протисудорожної дії фенобарбіталу та діазепаму (B. S. Meldrum, 1989; R. Knapp et al., 1990).

## 2. Вплив торфоту на вогневищу епілептичну активність.

Завданням наступної частини досліджень було вивчення ефектів торфоту на одиночні вогнища ЕпА, утворені в корі голов-

ного мозку щурів за допомогою аплікації розчинів пеніциліну різної концентрації. В контрольній групі тварин за 3- 5 хвилин після аплікації пеніциліну на ділянку сенсомоторної кори у зоні нанесення конвульсанта спостерігалася поява пік- хвильових розрядів амплітудою 150- 250 мкВ. Через 10- 15 хвилин від моменту аплікації конвульсанта амплітуда розрядів збільшувалася і досягала 400- 600 мкВ. Частота розрядів в цей час складала 20- 40 в хвилину. В наступні 15- 25 хвилин спостерігалася зниження частоти і амплі- туди розрядів до повного їх зникнення. Загальна тривалість епі- лептичного вогнища за цих умов складала 45- 52 хвилини.

В подальших експериментальних дослідженнях було встановлено, що торфот затримує розвиток ЕПА у вогнищі. Так, при аплікації на кору мозку пеніциліну (0.3%), що розчинений в препараті торфот, спостерігали подовження латентного періоду реєстрації пікхвильових розрядів на 170% ( $P < 0.001$ ), зменшення на 30% їх амплі- туди та зниження в 3 рази частоти епілептиформних розрядів ( $P < 0.002$ ) у порівнянні з аналогічними показниками в контролі. Аналогічні результати було отримано в дослідях при створенні вогнищ ЕПА при використанні пеніциліну в концентраціях 0.4% і 0.7%, що розчинений в препараті торфот.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що торфот спричиняє протисудорожну дію в умовах утворення в корі головного мозку щурів вогнищ відносно слабкої пеніцилін- викликані ЕПА. Найбільш виражений ефект торфоту виявлено при концентраціях пеніциліну 0.3% і 0.4%.

В наступній серії експериментів досліджували вплив попереднього застосування торфоту на динаміку розвитку вогнищ ЕПА, створених в корі головного мозку котів шляхом аплікації 0.7%, 1.0% та 1.3% розчинів пеніциліну. Перші судорожні розряди у вогнищі ЕПА, який був індукований аплікацією 0.7% пеніциліна на фоні попередніх 14 ін'єкцій торфоту, виникали на 8.5- 10 хвилинах, що було на 218% більше того ж показника у контрольній групі тварин ( $P < 0.001$ ). Амплітуда епілептичних потенціалів також була менше (в 3.2 раза) відповідного показника в контрольних дослідях ( $P < 0.001$ ). Дані відмінності у тварин досліджуваної та контрольної груп зберігались до кінця спостереження. Середня частота генерування судорожних потенціалів складала 5- 7, що було на 215% менше у порівнянні з контрольними спостереженнями ( $P < 0.001$ ). За-

гальна тривалість епілептичних вогнищ складала  $53 \pm 17$  хвилин, що було на 30% менше аналогічного показника в контролі ( $P > 0.05$ ).

При створенні вогнищ ЕПА методом нанесення на кору головного мозку експериментальних тварин 1.0% розчину пеніциліну в умовах попередніх застосувань торфоту перші епілептичні потенціали у вогнищі реєструвалися через  $6.1 \pm 0.6$  хвилин, що було на 56% більше того ж показника в контрольних спостереженнях ( $P < 0.01$ ). Амплітуда судорожних розрядів так само, як і середня частота їх виникнення, були, відповідно, на 47% і 41% менше тих же показників в контрольних експериментах ( $P < 0.001$ ). Вірогідні відмінності даних показників у тварин дослідної та контрольної груп зберігалися до кінця спостереження. Загальна тривалість епілептичних вогнищ складала 78-96 хвилин, що було на 3% менше аналогічного показника у контролі ( $P > 0.05$ ).

В експериментах по створенню пеніцилін (1.3%) - індукованої вогневищої ЕПА в умовах попереднього застосування торфоту було отримано результати, які свідчать про відсутність впливу препарату на амплітудно-частотні характеристики вогнищ ЕПА.

Таким чином, результати даної серії експериментів показують, що торфот при попередньому 2-тижневому застосуванні створює превентивний ефект на динаміку розвитку відносно слабкої вогневищої ЕПА але не впливає на розвиток відносно сильної пеніцилінвикликанної ЕПА.

На підставі отриманих позитивних результатів дослідів щодо впливу попереднього курсового застосування торфоту на динаміку розвитку вогневищої ЕПА виявилася необхідність перевірки впливу внутрішньовенного застосування препарату на вогнища ЕПА, створені аплікацією 1.0% пеніциліну. Під час максимальної фокальної епілептиформної активності вогнища внутрішньовенне застосування торфоту (0.5 мл) не впливало на зміни амплітуди та частоти пікхвильових розрядів ( $P > 0.05$ ). Через 20 хвилин після ре-аплікації конвульсанту на ділянку сенсомоторної кори головного мозку щурів в зоні вогнища реєструвалися судорожні потенціали, амплітуда яких була в 2 рази ( $P < 0.01$ ), а частота - в 2.5 рази ( $P < 0.001$ ) менша порівняно до відповідних показників в групах тварин з внутрішньовенним застосуванням ізотонічного розчину NaCl.

Отже, проведені досліді свідчать про те, що внутрішньовенне застосування торфоту під час максимальної фокальної активності

не впливає на генерування інтеріктальних пік-хвильових розрядів та суттєво редукує активність повторного вогнища.

### 3. Вплив торфоту та його сумісного застосування з проти-епілептичними препаратами в умовах фармакологічного кіндлінгу.

Завдання дальших серій експериментальних досліджень полягало у вивченні впливу попереднього застосування торфоту на динаміку розвитку коразолового кіндлінгу у мишей. Дослідження показали, що торфот не змінює характеру виникнення і розвитку епілептиформних проявів при коразол-індукованому кіндлінзі.

Далі нами було показано, що 7-добове застосування торфоту затримує розвиток судорожної активності на ранній стадії формування кіндлінг-викликаного судорожного синдрому і не впливає на пізні стадії розвитку коразолового кіндлінгу. Більш тривале застосування препарату (14 і 21 доба) привело до вираженої затримки формування кіндлінгових судорог у мишей, важкість яких була знижена на 40-42% ( $P < 0.002$ ) у порівнянні з контрольними дослідженнями. Необхідно також відмітити, що у цих тварин торфот знижував судорожну готовність у віддалені часи (через 20 і 45 діб після застосування конвульсанту). Таким чином, результати даної частини досліджень показують, що для затримки розвитку коразолового кіндлінгу необхідно досить тривале попереднє застосування торфоту - протягом 2 чи 3 тижнів; за таких умов протисудорожна дія препарату має місце протягом 0.5-1.5 місяців від моменту припинення застосування епілептогенів.

З метою дальшого дослідження дії препарату вивчався вплив його сумісного застосування з коразолом в субконвульсивних дозах на динаміку розвитку коразолового кіндлінгу. Інтенсивність коразол-викликаних судорог при 10-й ін'єкції конвульсанту була на 20% більше такого показника в групі тварин з внутрішньочеревним застосуванням торфоту ( $P < 0.05$ ). Вірогідні відмінності важкості судорог відмічалися до кінця завершення досліду (20 ін'єкцій епілептогену;  $P < 0.05$ ) і зберігалися через 20 ( $P < 0.01$ ) і 45 ( $P < 0.001$ ) діб перерви в застосуваннях конвульсанту. Отже, торфот при щоденному попередньому застосуванні затримує розвиток коразолового кіндлінгу, що виражалося у затриманні розвитку епілептиформних реакцій і відсутності виникнення генералізованих судорожних приступів. До особливостей даного ефекту препарату не-

обхідно віднести той факт, що через його вплив знижується судорожна готовність протягом 20- 45 діб після закінчення застосування конвульсанту.

В дальшому було поставлено завдання визначити вплив торфоту на судороги у кіндлінгових мишей. Після останньої (20- 1) ін'єкції коразолу у 11 з 20 тварин реєструвалися генералізовані судорожні випадки з падінням на бік, постприступною депресією і вегетативними розладами. Тестуваче застосування конвульсанту з 1 по 6 добу від моменту ін'єкції торфоту характеризувалося розвитком у тварин судорог, важкість яких була на 4- 18% більше аналогічного показника в контрольних експериментах ( $P > 0.05$ ). Застосування епілептогену в період з 7 до 21 добу від моменту застосування торфоту викликало у тварин клонічні судороги, інтенсивність яких була менше (на 22- 45%;  $P < 0.05$ ) відповідних показників в контрольних спостереженнях. Таким чином, дані результати свідчать про протисудорожну ефективність торфоту в умовах сформованої ЕпА при коразоловому кіндлінзі.

В наступній серії експериментів була поставлена задача дослідити вплив різних курсів попереднього застосування торфоту на динаміку розвитку пікротоксिनowego кіндлінгу у щурів. Максимальний ефект спостерігався при попередньому внутрішньочеревному (0.3 мл) уведенні препарату протягом 14 і 21 доби. За цими умовами інтенсивність пікротоксин- викликаних судорог у щурів досліджуваних груп була в 2- 5 разів менше аналогічних показників в контрольних групах тварин ( $P < 0.01$ ).

Вивчення впливу сумісного застосування торфоту (0.3 мл) і пікротоксину (1.0 мг/кг) на розвиток кіндлінгу показало превентивний вплив препарату на розвиток пікротоксिनowego кіндлінгу, починаючи з 12 ін'єкції епілептогену. Пікротоксин- викликані судороги за цих умов характеризувалися розвитком у тварин досліджуваних груп міоклонічних здригань і клонічних скорочень м'язів передніх кінцівок ( $P < 0.05$ ). Протисудорожний ефект препарату зберігався також в умовах перерви в уведеннях конвульсанту.

Завданням слідує частини експериментів було дослідження впливу торфоту на сформовану в процесі здійснення пікротоксिनowego кіндлінгу у щурів ЕпА. Іншим завданням дослідження було вивчення протисудорожних ефектів фенобарбіталу, діфенілгідантоїну, карбамазепіну, діазепаму і вальпроату натрію при їх поєднанні з торфотом на судорожну активність кіндлінгових щурів.

Під впливом торфоту (0.3 мл; протягом 7 діб) у кіндлінгових тварин відмічалось зменшення (на 38%) інтенсивності пікротоксиніндукованих судорог, які мали характер міоклонічних здригань і клонічних скорочень м'язів передніх кінцівок ( $P < 0.01$ ). Судороги, що викликались пікротоксином після застосування торфоту протягом 14 діб, характеризувались подовженням латентного періоду виникнення на 60% ( $P < 0.05$ ) і зниженням їх важкості (на 45%;  $P < 0.002$ ) при порівнянні з відповідними показниками в контрольній групі. В умовах курсового застосування торфоту кіндлінговим тваринам реєструвалось потенціювання протисудорожної дії фенобарбіталу і діазепаму, що було виражено у подовженні (на 72% і 75%, відповідно;  $P < 0.05$ ) латентного періоду перших пікротоксиніндукованих судорог, запобіганні розвитку генералізованих клоніко-тонічних судорожних приступів та зниженні інтенсивності судорог (на 57% і 51%, відповідно;  $P < 0.002$ ). Ефекти потенціювання дії зазначених антиепілептичних препаратів були підтверджені також при ЕЕГ-моніторингу біопотенціалів. Таким чином, на підставі отриманих експериментальних даних необхідно зазначити придушення під впливом торфоту поведінкових та ЕЕГ-проявів у тварин з пікротоксиновим кіндлінгом, а також показану принципову можливість потенціювання торфотом антиепілептичної дії фенобарбіталу і діазепаму, які були уведені кіндлінговим тваринам.

#### 4. Вплив торфоту на експериментальну посттравматичну епілепсію

Враховуючи виражену протисудорожну активність торфоту в умовах хронічної епілептизації мозку, нами було досліджено наявність даних ефектів препарату на оригінальній моделі посттравматичної епілепсії. Посттравматичну епілепсію моделювали у щурів з коразол (15 мг/кг і 30 мг/кг)-викликаним кіндлінгом через білатеральне застосування лізованої гомокрові (5.0 мкл) в утворення вентрального гіпокампу. В окремі серії досліджень за аналогічних умов при попередньому введенні в гіпокамп плазми крові не спостерігалось прискорення формування судорожної готовності. До того ж судорожна активність була значно нижча, ніж при введенні в гіпокамп лізованої гомокрові, що свідчить про необхідність залізовміщаючого компонента крові як додаткового протисудорожного фактора. Нам здається, що модель із введенням лізованої гомокрові в гіпокамп відбиває клінічний посттравматич-

ний стан.

До задання наступної серії експериментів входило дослідження впливу торфоту на формування коразолового кіндлінгу у щурів, яким в гіпокамп було введено гомокров. Вираженість судорожних реакцій, викликаних у тварин застосуванням коразолу, не відрізнялася суттєво в досліджуваній та контрольній групах тварин ( $P > 0.05$ ) і була менша за такі показники в групах щурів, у яких формування коразолового кіндлінгу адіянквали без торфоту і гомокрові ( $P < 0.05$ ). Таким чином, приведені дані свідчать про запобігання під впливом торфоту формування коразолового кіндлінга у щурів з внутрішньогіпокампальним уведенням лісованої гомокрові.

Було необхідно пояснити вплив курсового застосування торфоту на збереження підвищеної судорожної готовності відносно до тестуючих введень конвульсанту тваринам із використанням гомокрові, у яких потім формували коразоловий кіндлінг. Як показали досліди, застосування епілептогену через 24 години після курсового введення торфоту, викликало розвиток судорог, латентний період яких перевищував аналогічний показник в контрольній групі тварин на 4% ( $P > 0.05$ ). Інтенсивність судорог не відрізнялась від відповідного показника в контрольних спостереженнях ( $P > 0.05$ ). Використання конвульсанту через 20 діб від моменту застосування торфоту викликало у тварин розвиток судорожних реакцій, важкість яких була на 5% менша, ніж в контролі ( $P > 0.05$ ). На 45 день після застосування препарату латентний період перших коразол-викликаних судорог був довшим (на 2%;  $P > 0.05$ ) аналогічного показника в контролі. Важкість судорог була менше (на 45%) того ж показника в контрольних спостереженнях ( $P < 0.05$ ). Через 60 днів після застосування торфоту відмінностей в триманих показниках між досліджуваною та контрольною групами не спостерігалось. Отже, проведені дослідження свідчать про те, що торфот знижує стійкість та тривалість стану сформованої в процесі фармакологічного кіндлінгу підвищеної судорожної готовності.

Проведені дослідження свідчать в цілому про протиепілептичну ефективність торфоту, яка спостерігається в умовах вогневищої, гострої генералізованої та хронічної Епа. Широкий спектр протиепілептичної дії препарату, не пов'язаний з характером нейрохімічних порушень, що лежать в основі розвитку епілептичного синдрому, потенціювання ефектів антиепілептичних препаратів, здійснення протисудорожної дії шляхом запобігання формуванню, а

також дестабілізації гіперактивності епілептичної системи, разом з відомою відсутністю побічних ефектів торфоту, покажуть доцільність використання цього препарату як компонента комплексної патогенетичної терапії епілепсії.

### ВИСНОВКИ

1. Курсове застосування торфоту викликає зменшення важкості гострих генералізованих судорожних проявів, що індуковані у мишей внутрішньочеревним застосуванням коразолу, пікротоксину, тіосемікарбазиду, стрихніну, а також подовжує латентний період перших судорог, що викликані бікукуліном.

2. Курсове застосування торфоту сприяє потенціюванню проти-епілептичної дії фенобарбіталу діазепаму і, в меншому ступені, - діфенілгідантоїну, карбамазепіну і вальпроату натрію в умовах гострих генералізованих судорог, які викликаються коразолом і пікротоксином у мишей. Потенціювання протиепілептичної дії фенобарбіталу і діазепаму відзначається також в умовах індукції судорог через використання бікукуліну та тіосемікарбазиду.

3. Торфот затримує розвиток зогнища, утвореного аплікацією на кору головного мозку пеніциліну, що свідчить, певно, про його прямий вплив на мембрану епілептизованих нейронів.

4. В умовах формування коразол-індукованого кіндлінгу у мишей попереднє курсове застосування торфоту, а також його застосування перед кожним використанням конвульсанту сприяє придушенню розвитку генералізованої судорожної активності у тварин і зниженню їх судорожної готовності по відношенню до тестуючої дози епілептогену у віддалені часи після завершення кіндлінгу. Курсове застосування торфоту викликає пригнічення судорожної активності у тварин з коразоловим кіндлінгом.

5. Курсове застосування торфоту пригнічує розвиток епілептиформних проявів, а також сприяє зниженню генералізованих судорожних проявів у тварин при пікротоксиновому кіндлінзі.

6. Під впливом торфоту (7 застосувань препарату) газначається потенціювання протисудорожної дії антиепілептичних препаратів - фенобарбіталу, діфенілгідантоїну, карбамазепіну, діазепаму і вальпроату натрію - у тварин з пікротоксиновим кіндлінгом. Ефект потенціювання найбільш виражений по відношенню до протисудорожної дії фенобарбіталу і діазепаму і виявляється зниженням судорожних реакцій та електрографічних проявів, що

індукуються тестуючою дозою пікротоксину.

7. Торфот (попередні курсове застосування) придушує полегшений розвиток коразолового кіндінгу у шурів із внутрішньогіпокампаьним уведенням гомокрові. Застосування торфоту у шурів за цих умов, а також при кіндінаї, придушує судорожну активність, що провокується тестуьчим застосуванням коразолу, анижує судорожну готовність у тварин у віддалені часи після перерви при застосуванні конвульсанту.

### СПИСОК ДРУКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Влияние торфота на развитие коразолового отравления // Тканевая терапия. -Тез. докл. респ. науч. конф. "Применение тканевых препаратов в медицине". -Одесса, 1983. -Т. I. -С. 28-29 (в соавт. с А. В. Абрамовой).

2. Влияние торфота на развитие пенициллиновых эпилептиформных разрядов в коре головного мозга крыс // Тканевая терапия. -Тез. докл. респ. науч. конф. "Применение тканевых препаратов в медицине". -Одесса, 1983. -Т. I. -С. 67-68.

3. Влияние торфота на судорожную активность в условиях эксперимента // Тез. докл. VII съезда офтальмологов Украины. -Одесса, 1984. -С. 21 (в соавт. с Г. н. Крыжановским, А. А. Шандрой).

4. Влияние торфота на развитие судорожной активности в условиях эксперимента // Реабилитация больных с патологией органа зрения. -Тез. докл. науч. офт. конф. с участием иностр. спец. -Одесса, 1986. -С. 68-70 (в соавт. с А. А. Шандрой).

5. Вплив фенобарбіталу і торфоту на судорожну активність у мишей // Тез. доп. XII з'їзду Укр. фізіологічного товариства ім. І. П. Павлова. -Львів, 1986 -С. 156 (в соавт. с А. А. Шандрой).

6. The antitoxic potential of peat volatiles // Труды VIII Межд. конгресса по торфу. -Л, 1988. -Т. 4. -С. 65-69 (в соавт. с Е. П. Сотниковой, Н. Е. Думбровой).

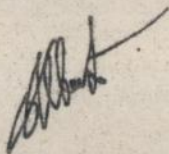
7. Оценка антистрессорного действия торфота // Биологические основы высокой продуктивности сельскохозяйственных животных. -Тез. докл. межд. науч. конф. -Боровск, 1990. -Т. 2. -С. 55 (в соавт. с А. Г. Трофимовой)

8. Биогенные препараты - корректоры адаптации // Тез. докл. VI съезда фармакологов Украины. -Харьков, 1990. -С. 118 ( в соавт. с В. Н. Соколовой, Н. М. Шериной).

9. Нормализующее влияние торфота в условиях киндлинга // Гериатрические средства: экспериментальный поиск и клиническое использование. -Тев. докл. всес. симп. -Киев, 1990. -С. 77 (в соавт. с А. А. Шандрой, Л. С. Годлевским, А. М. Мазарати, А. В. Абрамовой).

10. Влияние торфота на развитие судорожного процесса при моделировании посттравматической эпилепсии // Актуальные проблемы патологии судинного тракту ока при його захвориваннях. -Тев. докл. VIII межд. конф. офтальм. -Одесса, 1993. -С. 70 ( в соавт. с А. А. Шандрой, Л. С. Годлевским, А. М. Мазарати).

11. Устройство для фиксации электродного равъема на голове животного. Авторское свидетельство СССР N1695901 (в соавт. с А. А. Шандрой, Л. С. Годлевским, Х. И. Штурманом, А. Г. Трофимовой, А. Бандиопадям).







AB 30.338