НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

# ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА

# ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»

УДК 615.213 : 615.015.11

На правах рукопису

**МОВЧАН Олена Дмитрівна**

**ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ МЕХАНІЗМІВ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ДІЇ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ**

14.03.05 – фармакологія

# Дисертація на здобуття наукового ступеня

# кандидата біологічних наук

Науковий керівник

|  |
| --- |
| Громов Леонід Олександрович  доктор медичних наук, професор |

Київ-2016

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень .………………………………………….. 5

ВСТУП ..………………………………………………………………… 6

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| РОЗДІЛ 1 | ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ….………………………………… | 11 |
| 1.1 | Класифікація клінічних форм епілепсії …………………. | 12 |
| 1.2 | Принципи фармакотерапії епілепсії …………………….. | 15 |
| 1.3 | Класифікація протиепілептичних засобів та механізми  їх дії ……………………………………………………….. | 21 |
| 1.4 | Терапевтична резистентність до дії антиконвульсантів … | 27 |
| РОЗДІЛ 2 | МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ …..……… | 43 |
| 2.1 | Характеристика експериментальних тварин …................. | 43 |
| 2.2  2.3 | Характеристика досліджуваних препаратів та рецепторних аналізаторів нейромедіаторних систем ..….  Експериментальні моделі судомних станів……………… | 43  45 |
| 2.3.1 | Електроіндуковані судоми ……………………………….. | 46 |
| 2.3.2  2.4  2.5 | Хемоконвульсантні моделі судом .………………………..  Дослідження толерантності сполук ………………………  Вивчення перехресної толерантності між протисудомними засобами ..……………………………. | 46  48  49 |
| 2.6 | Кількісне визначення антиконвульсантів у сироватці крові та тканинах мозку з використанням методу ВЕРХ .. | 50 |
| 2.7 | Методика змін барбітуратного сну як показника стану системи цитохрома Р-450 ..….…………………………… | 52 |
| 2.8 | Методи статистичної обробки отриманих результатів …. | 52 |
| РОЗДІЛ 3  3.1  3.2  3.3  3.3.1  3.3.2  3.3.3  3.3.4  3.3.5  РОЗДІЛ 4 | РОЗВИТОК ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ПРОТИСУДОМНОЇ ДІЇ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ ПРИ ЇХ ТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ………………………………………………….  Валідація експериментальних моделей судомних станів..  Вибір експериментальних моделей судомних станів,  чутливих до дії досліджуваних антиконвульсантів ……..  Толерантність до протисудомної дії антиконвульсантів ..  Фенобарбітал ………………………………………………  Карбамазепін ……………………………………………….  Вальпроат натрію ………………………………………….  Топірамат …..………………………………………………  Ламотриджин ………………………………………………  ПЕРЕХРЕСНА ТОЛЕРАНТНІСТЬ МІЖ ПРОТИСУДОМНИМИ ПРЕПАРАТАМИ ПРИ ЇХ ТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ ………………………………. | 54  55  57  61  61  66  68  69  69  74 |
| 4.1  4.2  4.3  4.4  РОЗДІЛ 5  5.1  5.2  5.3  5.4  РОЗДІЛ 6  6.1  6.2  6.3  6.4  6.5  РОЗДІЛ 7  7.1  7.2  7.3  7.4  7.5 | Фенобарбітал ………………………………………………  Карбамазепін ……………………………………………….  Вальпроат натрію ………………………………………….  Топірамат …..………………………………………………  ПРОТИСУДОМНА АКТИВНІСТЬ ПІДВИЩЕНИХ ДОЗ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ, ВВЕДЕНИХ НА ФОНІ СФОРМОВАНОЇ ТОЛЕРАНТНОСТІ ……………………  Фенобарбітал ………………………………………………  Карбамазепін ……………………………………………….  Вальпроат натрію ………………………………………….  Топірамат …..………………………………………………  ФАРМАКОДИНАМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ДІЇ ПРОТИСУДОМНИХ ЗАСОБІВ ………………………………………………….  Фенобарбітал ………………………………………………  Карбамазепін ……………………………………………….  Вальпроат натрію ………………………………………….  Топірамат …..………………………………………………  Ламотриджин ………………………………………………  ФАРМАКОКІНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ДІЇ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ ..  Фенобарбітал ………………………………………………  Карбамазепін ……………………………………………….  Вальпроат натрію ………………………………………….  Ламотриджин ………………………………………………  Топірамат …...……………………………………………… | 75  79  81  83  88  89  90  91  92  96  97  103  106  108  108  113  114  119  122  126  130 |

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ……… 135

ВИСНОВКИ ………………………………………………………………. 144

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ………………………………... 146**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

|  |  |
| --- | --- |
| ВЕРХ | -високоефективна рідинна хроматографія |
| ВЛР | -вторинна лікарська резистентність |
| ВООЗ | -Всесвітня організація охорони здоров’я |
| в/ч | -внутрішньочеревно |
| ГАМК | -гамма-аміномасляна кислота |
| ГЕБ | -гематоенцефалічний бар’єр |
| ЕЕГ | -електроенцефалограма |
| ЛД50 | -середня летальна доза |
| ЛЗ | -лікарський засіб |
| МЕШ | -максимальний електрошок |
| МПЕЛ | -Міжнародна протиепілептична ліга |
| МРТ | -магнітно-резонансна томографія |
| ПЕП | -протиепілептичний препарат |
| ПЛР | -первинна лікарська резистентність |
| ТЛМ | -терапевтичний лікарський моніторинг |
| ЯЖ | -якість життя |
| CBZ | -карбамазепін |
| FDA | -Управління з нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів |
| GBP | -габапентин |
| LEV | -леветирацетам |
| LTG | -ламотриджин |
| MRPs | -мультилікарські резистентні протеїни |
| PB | -фенобарбітал |
| P-gp | -Р-глікопротеїн |
| PHT | -фенітоїн |
| TPM | -топірамат |
| VGB | -вігабатрин |

**ВСТУП**

**Актуальність теми.** Лікуванняфармакорезистентної епілепсії залишається не до кінця вирішеною проблемою медичної науки, незважаючи на постійний розвиток фармакотерапії даного захворювання і появу нових протиепілептичних препаратів (ПЕП) [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Майже 30% хворих залишаються резистентними до фармакологічного лікування [8, 9, 10, 11].

Фармакорезистентна епілепсія – мультифакторіальний феномен, в основі якого лежать численні генетичні і набуті механізми [12, 13, 14]. Загалом терапевтична, або лікарська, резистентність до протиепілептичних засобів поділяється на первинну (ПЛР) і вторинну (ВЛР) [15, 16].

При ПЛР вже на початку лікування не спостерігається протисудомного ефекту при застосуванні антиконвульсанта, що пов’язано з генетичним поліморфізмом ДНК, експресія пар нуклеотидів якої регулює синтез білків та рецепторів нейрональних мембран, що призводить до неналежного функціонування [іонних каналів](http://uk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%86%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D0%B8%D1%85_%D0%BA%D0%B0%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D1%96%D0%B2&action=edit&redlink=1), [білків](http://uk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%91%D1%96%D0%BB%D0%BA%D1%96%D0%B2&action=edit&redlink=1), [ГАМК-рецепторів](http://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%90%D0%9C%D0%9A-%D1%80%D0%B5%D1%86%D0%B5%D0%BF%D1%82%D0%BE%D1%80) та [рецепторів, сполучених із G-білком](http://uk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A0%D0%B5%D1%86%D0%B5%D0%BF%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%96%D0%B2,_%D1%81%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D1%83%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%85_%D1%96%D0%B7_G-%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%BE%D0%BC&action=edit&redlink=1) [17, 18, 19, 20, 21, 22].

При ВЛР розвиток фармакорезистентності може бути пов’язаний з патогенезом епілепсії, що індукує кіндлінг-механізм, один з основних механізмів прогредієнтності епілепсії з формуванням резистентності [23, 24, 25].

Вторинна резистентність, або толерантність, формується у процесі тривалого застосування лікарського засобу і є по суті викликаним синдромом, що сформувався внаслідок тривалого вживання лікарського засобу [26, 27, 28, 29].

Ось чому дослідження проблеми толерантності до дії протисудомних засобів має не тільки теоретичний інтерес, але й лежить у площині практичної розробки підходів підвищення ефективності лікування епілепсії, наразі її фармакорезистентних форм.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота виконана у розрізі планових наукових тем ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ» «Дослідження розвитку терапевтичної резистентності до протисудомних засобів при їх тривалому застосуванні» (№ держреєстрації 0106U000867) та «Міжпівкульна нейропсихофармакологія: домінантна ліво-правопівкульна дія протиепілептичних засобів» (№ держреєстрації 0111U002467).

**Мета та завдання дослідження.** Мета роботи полягає у визначенні закономірностей механізмів розвитку толерантності до протисудомної дії антиконвульсантів при їх тривалому введенні і на цьому підґрунті розробки підходів лікування фармакорезистентної епілепсії. Для досягнення мети були визначені наступні завдання:

1. Встановити закономірності розвитку толерантності до дії протисудомних засобів при їх тривалому введенні.

2. Дослідити можливість формування перехресної толерантності між фенобарбіталом, карбамазепіном, вальпроатом натрію, топіраматом та ламотриджином.

3. Перевірити протисудомну активність кожного антиконвульсанта у дозі, що на 50% перевищує початкову протисудомну, введеного на фоні сформованої толерантності до даного препарату.

4. Визначити фармакодинамічні механізми розвитку толерантності до дії досліджуваних антиконвульсантів.

5. Встановити фармакокінетичні особливості фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату та ламотриджину на фоні сформованої толерантності до їх протисудомної дії.

6. Визначити підходи раціонального застосування протисудомних препаратів при лікуванні фармакорезистентної епілепсії.

***Об’єкт дослідження:*** закономірності розвитку механізмів формування толерантності до дії антиконвульсантів при їх тривалому введенні.

***Предмет дослідження:*** протисудомна дія антиконвульсантів (фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію, топірамат, ламотриджин) та їх раціональне застосування при фармакотерапії резистентної епілепсії.

***Методи дослідження:*** фармакологічні, фізико-хімічні (високоефективна рідинна хроматографія) та статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено, що на моделях хемоконвульсантних судом, які асоціюються з малими клінічними формами епілепсії, толерантність до протисудомної дії фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату та ламотриджину при їх тривалому введенні формується швидше, ніж на моделях електроіндукованих судом, які екстраполюються на генералізовані судомні стани.

Вперше встановлено, що формування толерантності до антиконвульсантів пов’язано також з виявленими фармакокінетичними особливостями протисудомних препаратів при їх тривалому введенні. У певній мірі ці зміни обумовлені зрушеннями в активності ферментів системи цитохрому Р-450.

Уточнено та доповнено дані про формування прямої та перехресної толерантності до фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію та топірамату.

Набуло подальшого розвитку вивчення фармакологічної активності підвищених доз антиконвульсантів.

Визначені фармакодинамічні механізми розвитку толерантності, які полягають у змінах функціонування, головним чином, ГАМК-ергічної передачі, що призводить до зниження активності гальмівної ланки нейрофізіологічних процесів і припинення протисудомної дії антиконвульсантів.

Наукова новизна роботи підтверджена Інформаційним листом про нововведення в системі охорони здоров’я «Раціональне застосування антиконвульсантів у лікуванні фармакорезистентної епілепсії» (№ 315-2012).

**Практичне значення одержаних результатів.** Встановлений більш швидкий розвиток толерантності до протисудомних засобів при лікуванні малих форм епілепсії. Досліджена перехресна толерантність між фенобарбіталом, карбамазепіном, вальпроатом натрію та топіраматом, яка призводить до зниження або відсутності терапевтичного ефекту.

При лікуванні генералізованих судомних станів за умов розвитку толерантності до фенобарбіталу показано призначення карбамазепіну або ламотриджину. Доведено, що підвищення дози протисудомних препаратів для подолання терапевтичної резистентності не призводить до очікуваного лікувального ефекту і може сприяти посиленню токсичної дії протисудомних засобів.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз даних літератури за темою дисертації, виконані експериментальні дослідження, здійснені статистична обробка одержаних даних, оформлення таблиць та рисунків, проаналізовані результати досліджень, сформульовані основні положення та висновки роботи. Автором особисто проведені підготовка до публікації наукових праць за основними положеннями дисертації, написання і оформлення дисертації та автореферату.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації було представлено на ХХVII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення та апробації лікарських засобів» (Харків, 2010); науковій конференції, присвяченій 170-річчю кафедри фармакології та клінічної фармакології НМУ імені О.О. Богомольця (Київ, 2011); IV Національному з’їзді фармакологів України (Київ, 2011); міжнародній науково-практичній конференції «Медичні та фармацевтичні науки: аналіз сучасності та прогноз майбутнього» (Дніпропетровськ, 2013); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Загальнотерапевтична практика: нові технології та міждисциплінарні питання» (Харків, 2013); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики» (Львів, 2013).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт, з них 8 статей у наукових фахових виданнях, в т.ч. 1 зарубіжна, 1 інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров’я, 6 тез у матеріалах з’їздів, конгресів, науково-практичних конференцій.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 174 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», п’яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків та списку використаної літератури. Бібліографія включає 274 джерела інформації, з них 106 – кирилицею та 168 – латиницею. Робота проілюстрована 53 таблицями, 19 рисунками.

**РОЗДІЛ 1**

**ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ**

Відповідно до сучасного визначення Міжнародної протиепілептичної ліги і Міжнародного бюро з епілепсії (ILAE, IBE, 2005), епілепсія – це розлад мозкової діяльності, що характеризується стійкою схильністю до виникнення епілептичних нападів, а також нейробіологічними, когнітивними, психологічними і соціальними наслідками цього стану. Діагноз епілепсії вимагає появи щонайменше одного епілептичного нападу [30].

Епілепсія не є єдиним захворюванням, це гетерогенна група епілептичних синдромів. Епілептичний синдром – окрема форма епілепсії, яка характеризується типовим віком дебюту (вікозалежність), типовою комбінацією варіантів епілептичних нападів, типовими перебігом та відповіддю на терапію. Епілептичний синдром може також характеризуватися типовим ЕЕГ-патерном у міжприступному періоді.

Епілепсія є одним із найбільш розповсюджених захворювань нервової системи та серйозною медико-соціальною проблемою. На сьогодні в усьому світі від цього захворювання страждає понад 50 мільйонів людей, в Європі – 6 млн [31, 32, 33, 34]. Проведені в розвинених країнах популяційні дослідження показали, що даний недуг щорічно виявляється у 40-70 осіб на 100 тис. населення [35, 36]. Поширеність епілепсії – 5-10 випадків на 1000 населення. 5% населення переносять не менше 1 нападу протягом життя, 20-30% пацієнтів захворювання супроводжує все життя [37]. 85% усіх хворих на епілепсію мешкають у країнах, що розвиваються, 80% пацієнтів не отримують належного лікування. В Україні на обліку перебуває близько 100 тис. пацієнтів з діагнозом «епілепсія», а реальна картина – 500 тис. осіб з проявами захворювання [38, 39].

Сьогодні існує досить великий арсенал лікарських засобів, які віднесені до протиепілептичних препаратів. Однак пошуки нових речовин, що представляють майбутні потенційні препарати не припиняються, оскільки ПЕП приймаються у більшості випадків усе життя і з часом, а інколи й відразу, розвивається зниження чутливості до них або повна толерантність. За даними Міжнародної протиепілептичної ліги (МПЕЛ) серед 150 тис. хворих з вперше діагностованими епілепсіями 10-20% стають фармакорезистентними [32, 33].

Така ситуація вимагає з одного боку пошуку нових перспективних протисудомних молекул, а з іншого – дослідження найважливіших механізмів розвитку терапевтичної резистентності до вже існуючих і добре зарекомендованих препаратів з тривалою клінічною історією. Саме визначення механізмів розвитку толерантності дадуть змогу обґрунтовано вивчати і пропонувати шляхи її подолання та оптимізувати лікування епілепсії.

* 1. **Класифікація клінічних форм епілепсії**

В історичному контексті класифікація епілепсії є відображенням знань про сутність захворювання на кожному етапі її вивчення.

Перші згадки про епілептичні напади з’явились більше 3000 років тому. На початку XIX ст. J. Delasiauve запропонував терміни «ідіопатична епілепсія» та «симптоматична епілепсія». Ескіроль у 1815 р. виділив два види клінічних проявів нападів: великі судомні (grand mal) і малі безсудомні (petit mal). У 1870 р. H. Jackson вперше розділив епілептичні пароксизми на генералізовані – із залученням обох півкуль і парціальні – із залученням конкретної області мозку [40]. W.G. Lennox у 1960 році запропонував одну з перших сучасних класифікацій епілептичних нападів, за якою різні види нападів розподілялися по тріадам (тріада petit mal, тріада grand mal і тріада психомоторних (скроневих) нападів. У 1969 р. Міжнародна ліга по боротьбі з епілепсією розділила генералізовану епілепсію на дві форми: первинну і вторинно-генералізовану [41].

Розробка методу ЕЕГ дала змогу порівнювати електрофізіологічні та клінічні ознаки епілептичних пароксизмів. Це сприяло ухваленню в 1970 р. першої міжнародної класифікації епілептичних нападів, яка ґрунтувалась на клінічній характеристиці різних типів нападів та їх кореляцій з даними ЕЕГ [42].

Спроби створити інші класифікації епілептичних нападів продовжувались у різних країнах і в подальшому. Дійсна до сьогоднішнього дня класифікація була затверджена на XIII конгресі МПЕЛ у 1981 р. в Кіото (Японія), згідно якої напади поділялися за дихотомічним принципом на генералізовані та вогнищеві, окрему групу становлять некласифіковані напади [43]. У 1989 р. на XVIII конгресі у Нью-Делі (Індія) вперше була затверджена класифікація епілепсії як захворювання [44], а вірніше, епілепсії і епілептичних синдромів, оскільки тепер епілепсію розглядають як гетерогенну групу захворювань, для яких облігатним симптомом є наявність епілептичного нападу [45].

Клінічна практика показала, що деякі форми епілепсії можуть включати декілька типів нападів, а також, що один тип нападів може бути проявом різних форм епілепсій. У дорослих пацієнтів найчастіше діагностують парціальну симптоматичну, з/без подальшою вторинною генералізацією [46, 47]. Актуальність фокальної епілепсії обумовлена тим, що фокальні напади, особливо комплексні парціальні, дають найвищий відсоток фармакорезистентності [48, 49, 50].

Дані факти, а також етіологічний та локалізаційний принципи і лягли в основу розробки Міжнародної класифікації епілепсій і епілептичних синдромів від Комісії по класифікації і термінології Міжнародної протиепілептичної ліги (1989) з доповненнями [51, 52].

1. Пов’язані з локалізацією (фокальні, локальні, парціальні) епілепсії і синдроми.
   1. 1.1. Ідіопатичні (з початком у певному віці)
   2. 1.2. Симптоматичні
   3. 1.3. Криптогенні

2. Генералізовані епілепсії та синдроми

* 1. 2.1. Ідіопатичні (з початком у певному віці, в порядку віку появи)

2.2. Криптогенні або симптоматичні (в порядку віку появи)

2.3. Симптоматичні

3. Епілепсії і синдроми, не визначені відносно того, чи є вони фокальними або генералізованими

3.1. З генералізованими і фокальними нападами

3.2. Без однозначних генералізованих або фокальних рис

Сюди відносяться усі випадки з генералізованими тоніко-клонічними нападами, при яких клінічні і ЕЕГ-дані не дозволяють чітко класифікувати генералізовані або локальні, як, наприклад, напади grand mal уві сні.

4. Спеціальні синдроми. Ситуаційно зумовлені напади

4.1. Фебрильні напади

4.2. Ізольований епілептичний напад або ізольований епілептичний статус

4.3. Напади, які виникають виключно при гострих метаболічних або токсичних порушеннях чи під впливом таких чинників, як алкоголь, медикаменти, еклампсія, кататонія, гіперглікемія.

Традиційно класифікація епілепсії представляла великі труднощі у зв’язку з поліетіологічністю та різноманітністю клінічних форм. До того ж, класифікації завжди умовні і ніколи не можуть врахувати всі можливі аспекти явища. Наведена класифікація не є універсальною. Це пов’язано, зокрема, з тим, що продовжується опис нових форм хвороби, уточнюються їх діагностичні критерії, закономірності протікання і прогноз. Традиційна номенклатура епілептичних нападів теж стала неадекватно відображати поточний стан знань з анатомії та фізіології нападів[53].Тому в 2010 р. опубліковані нові пропозиції робочої групи Міжнародної протиепілептичної ліги щодо змін у класифікації епілепсії та епілептичних нападів[54]*.*

За етіопатогенетичним принципом епілепсія поділяється на:

* генетичну (раніше  – ідіопатична), де причиною хвороби слугує генетичний дефект;
* структурну і метаболічну (раніше  – симптоматична), обумовлені патологічним впливом на мозок (травми, інсульти, гіпоглікемія та ін.)
* епілепсію, викликану невідомою причиною (раніше – криптогенна).

Варто зазначити, що як генетичні, так і структурні та метаболічні епілепсії в чистому вигляді зустрічаються дуже рідко. У більшості випадків спостерігається поєднання генетичних факторів і зовнішніх пошкоджуючих впливів [1, 33, 55].

Поділ епілепсії на фокальну і генералізовану втратив актуальність. Терміни «фокальний» і «генералізований» допустимо застосовувати до нападів, але не форм епілепсії. Нові дані щодо функціональних та анатомічних зв’язків у головному мозку доводять наявність епілептогенного вогнища при всіх формах епілепсії. Генералізований епілептичний напад запропоновано розглядати як такий, що починається з якогось місця в межах нейрональної мережі (*network*) зі швидким білатеральним залученням підкіркових і кіркових структур, а вогнищевий епілептичний напад – це напад, що виникає всередині мережі, обмеженої однією півкулею [1, 55].

Пропонується відмовитись від поділу вогнищевих нападів на прості та складні тільки за ознакою порушення або втрати свідомості та описувати їх згідно іктальної семіотики [1, 55].

Новий проект класифікації залишається суперечливим і для свого затвердження потребує ще визнання всім співтовариством фахівців, які працюють у сфері епілептології.

* 1. **Принципи фармакотерапії епілепсії**

Епілепсія ще на початку минулого століття більшістю лікарів вважалася невиліковним, прогредієнтим і таким, що призводить до глибоких змін особистості, захворюванням. У теперішній час приблизно у 70% пацієнтів вдається контролювати напади за допомогою фармакотерапії, проте лікування епілепсії залишається однією з найбільш складних проблем неврології та психіатрії [56, 57, 58].

Ефективність лікування епілепсії оцінюється, в першу чергу, зменшенням частоти нападів у пацієнтів без впливу на інтелектуально-мнестичні функції, з мінімумом значних побічних ефектів, із забезпеченням постійної адекватної концентрації ПЕП в крові [59, 60, 61]. Нещодавно в Chalfont Centre for Epilepsy (Англія) була розроблена Шкала інтенсивності нападів, яку використовують для оцінки ефективності протиепілептичних препаратів під час лікування [62].

Від правильної діагностики типу нападу і форми епілепсії залежить адекватний вибір лікарських засобів, можливість прогнозування перебігу і наслідків захворювання – від одужання до розвитку його важкокурабельних форм. Діагностика повинна ґрунтуватися на визначенні: 1) епілептогенного вогнища; 2) типу нападу; 3) етіології; 4) частоти нападів; 5) супутньої патології або даних додаткових методів дослідження [63, 64, 65]. Майстерно зібраний анамнез, методологічно правильно проведена ЕЕГ та МРТ і, що дуже важливо, досвід лікаря покликані унеможливити помилку при постановці діагнозу [33, 66, 67].

До основних принципів сучасного лікування епілепсії й епілептичних синдромів відносять:

1) підвищення якості життя (як найважливіший критерій) [68]. Згідно з критеріями ЯЖ, розробленими ВООЗ, пацієнт повинен бути задоволеним своїм фізичним, психічним і соціальним благополуччям в усіх аспектах його функціонування в суспільстві [59, 69];

2) індивідуальність лікування. Для кожного пацієнта слід підбирати стратегію терапії ПЕП з урахуванням коморбідності епілепсії, взаємодії препаратів та ризику потенційних побічних ефектів [24, 39, 70, 71];

3) безперервність і тривалість лікування.

Навіть після повного припинення нападів препарати приймають ще протягом 2-3 років і припиняють через один рік після нормалізації ЕЕГ. Протиепілептичні препарати необхідно приймати щоденно, без пропусків. Передчасна відміна препаратів може спричинити розвиток тяжких і тривалих судом, інколи з розвитком епілептичного статусу [48];

4) комплексність лікування. Призначається патогенетичне, симптоматичне лікування. Первинний патологічний процес, наприклад, нейроінфекція чи судинна патологія, теж повинен піддаватися медикаментозному впливу [72];

5) спадкоємність. У разі необхідності процес заміни препарату здійснюють повільно і поступово.

Основним компонентом лікувальних заходів при епілепсії є медикаментозне лікування протисудомними засобами [73].

Антиконвульсанти слід призначати з урахуванням часу найбільш ймовірного виникнення нападу, на основі аналізу щоденника нападів пацієнта. Такий підхід забезпечить оптимальну схему призначеної терапії. При лікуванні епілепсій необхідно добиватись не тільки досягнення медикаментозної ремісії нападів, корекції психічних розладів і нормалізації ЕЕГ, але і оптимального співвідношення ціна/якість та найвищої можливої якості життя пацієнта [74].

Як правило, суворою специфічністю по відношенню до різних форм епілепсії протисудомні препарати не володіють. Один і той же препарат може бути різною мірою ефективним при різних проявах епілепсії. Разом з тим препарату універсального типу дії, досить ефективного при всіх формах і проявах епілепсії, поки немає [75, 76]. Так, карбамазепін, фенітоїн, габапентин і прегабалін показали свою ефективність лише у пацієнтів з парціальними нападами з або без вторинної генералізації. Слід зазначити, що неадекватне призначення антиконвульсантів може лише ускладнити перебіг захворювання, наприклад, карбамазепін і ламотриджин можуть спровокувати або зробити частішими міоклонічні напади [52].

Золотим стандартом лікування даного захворювання залишається монотерапія [36, 75, 77, 78]. З огляду на багатий вибір протиепілептичних препаратів, що мають різний механізм дії, адекватність лікарської терапії набуває важливого значення [79, 80].

Важливо, що повноцінна відповідь на перший ПЕП є найбільш достовірним критерієм сприятливого прогнозу [36, 81]. Тому надзвичайно серйозною проблемою, що стоїть перед клініцистом, залишається проблема оптимального вибору першого препарата [45, 82, 83, 84].

ВООЗ розглядає як життєво необхідні наступні антиконвульсанти: вальпроат, карбамазепін, фенітоїн, фенобарбітал, етосуксимід, діазепам та лоразепам. Необхідними вважають препарати, що задовольняють потреби покращання здоров’я більшості хворих конкретної популяції [85, 86]. Інші препарати також можуть бути ефективними в якості 2- чи 3-го препарату при лікуванні резистентних форм епілепсії [56, 87, 88, 89]. Поняття «препарати першої лінії вибору», тобто препарати, що задовольняють вимоги поліпшення здоров’я у більшості хворих конкретної популяції, дещо варіюють в різних країнах, але у більшості європейських країн до них відносять вальпроати і карбамазепін [90, 91, 92].

Якщо не спостерігається задовільної терапевтичної відповіді при лікуванні одним антиконвульсантом, то переходять до альтернативної монотерапії іншим базовим препаратом або новим антиконвульсантом [93, 94, 95]. Комбінація препаратів може бути рекомендована після двох невдалих спроб монотерапії, оскільки шанс успіху третього препарата мінімальний [61, 78, 96, 97].

Відповідно до рекомендацій ILAE лікування ПЕП вважають ефективним, якщо інтервал між нападами збільшився, як мінімум, втричі у порівнянні з таким до лікування даним препаратом чи напади відсутні більше 12 місяців [23].

Вважається, якщо у пацієнта не спостерігається контролю над судомами при застосуванні перших двох чи трьох препаратів (у тому числі комбінації) протягом перших двох чи трьох років від початку лікування, то навряд чи коли-небудь вони досягнуть ремісії і, зазвичай, розглядаються як претенденти до розвитку лікарської резистентності [98, 99].

При доборі лікування рефрактерних форм епілепсії найкращі результати отримують при комбінації двох антиконвульсантів різної дії, комбінація із чотирьох антиконвульсантів не прогнозована і зазвичай є токсичною сумішшю [24, 33, 100, 101].

Вибір препаратів необхідно проводити з урахуванням їх фармакокінетичних і фармакодинамічних взаємодій.

Комбінація препаратів у відповідності до їх механізмів дії та специфіки патології забезпечується дотриманням загальних правил фармакодинаміки, а досягнення терапевтичних концентрацій препаратів в точці мішені – фармакокінетики (табл. 1.1, 1.2) [27, 102, 103, 104, 105].

Таблиця 1.1

**Можливі комбінації протиепілептичних препаратів**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **АЕП** | **CLP** | **GBP** | **LCM** | **LTG** | **LEV** | **OXC** | **PHB** | **PHT** | **TPM** | **VPA** |
| **CBZ** | ФЕ | ФЕ | ФЕ | ФК, ПЕ | ФЕ | НК, ПЕ | ФК, ФЕ | ФК, ПЕ | ФК, ФЕ | ФК, ФЕ |
|  | **CLP** | ФЕ | НД | ШС | ШС | ФЕ | ПЕ | ФЕ | ШС | ШС |
|  | НК | НК | ГЕ | ГЕ | НК | НК | НК | ГЕ | ФК, ГЕ |
| **GBP** | ФЕ | ФЕ | ФЕ | ФЕ | НК, ПЕ | ФЕ | ФЕ | ФЕ |
|  | **LCM** | ФЕ | ФЕ | ФЕ | НД | ФЕ | ФЕ | ФЕ |
|  | **LTG** | ГЕ | ФК, ПЕ | ФК, ФЕ | ФК, ПЕ | ФЕ | ФК, ФЕ |
|  | **LEV** | ФЕ | ШС | ФЕ | ШС | ШС |
|  | **OXC** | ФК, ФЕ | ФК, ПЕ | ФЕ | ФЕ |
|  | **PHB** | ФК, ФЕ | ФК, ФЕ | ФК, ПЕ |
|  | **PHT** | ФК, ФЕ | ФК, ФЕ |
|  | **TPM** | ФК,ШС |
|  | **VPA** |
|  |

Умовні позначення:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| AZM – ацетазоламід  BZD – бензодіазепіни  CBZ – карбамазепін  CLP – клоназепам  GBP – габапентин  LCM – лакосамід  LEV – леветирацетам  LTG – ламотриджин  OХС – окскарбазепін  PB – фенобарбітал  PHT – фенітоїн  TPM – топірамат  VPA – вальпроати |  | ФК – фармакокінетична взаємодія  НК – нелогічна комбінація  ПЕ – ризик додаткових побічних ефектів  ФЕ – тільки для фокальної епілепсії  ГЕ – тільки для генералізованої епілепсії  ШС – комбінація широкого спектру дії  МЕ – для міоклонічних форм епілепсії  Сірим кольором позначені небажані комбінації |

Таблиця 1.2

**Рекомендовані діапазони** **терапевтичної** **концентрації**

**основних протиепілептичних препаратів**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Препарат | Терапевтична концентрація | |
| мкг/мл | мкмоль/л |
| Вальпроати | 50-100 | 350-700 |
| Карбамазепін | 3-12 | 12-50 |
| Ламотриджин | 2-20 | 8-80 |
| Леветирацетам | 20-60 | 115-350 |
| Окскарбазепін | 5-50 | 20-200 |
| Топірамат | 2-25 | 6-75 |
| Фенітоїн | 3-20 | 12-80 |
| Фенобарбітал | 10-30 | 40-120 |
| Етосуксимід | 40-100 | 300-700 |

Проте, слід пам’ятати, що політерапія внаслідок фармакокінетичної взаємодії може провокувати зниження терапевтичного ефекту. Крім того, можуть розвиватися симптоми гострої інтоксикації на один із препаратів, який раніше переносився добре. Внаслідок фармакодинамічної взаємодії може спостерігатися порушення механізмів дії препаратів в області рецепторів, без суттєвої зміни рівня активних речовин у крові.

Сучасний рівень наукових знань не дає обґрунтованих рекомендацій для боротьби зі зниженням терапевтичного ефекту або, іншими словами, зі сформованою толерантністю. Тактика лікування таких пацієнтів полягає у підвищенні дози препаратів, що має тимчасовий ефект, і заміною препаратів, що часто відбувається без урахування їх фармакодинамічних і фармакокінетичних особливостей [97, 106, 107].

* 1. **Класифікація протиепілептичних засобів та механізми їх дії**

Протиепілептичні засоби– це лікарські препарати різноманітного походження, які використовують для попередження чи зменшення (за інтенсивністю і частотою) судом, відповідних їм еквівалентів (втрата або порушення свідомості, поведінкові та вегетативні порушення та ін.), що спостерігаються при періодично виникаючих нападах різних форм епілепсії [108].

Історія протиепілептичних препаратів розвивалася дуже звивистими шляхами – від застосування бромідів у середині 19 століття, фенобарбіталу і фенітоїну в першій половині 20 століття і до вальпроатів і карбамазепіну, які були та значною мірою залишаються й досі стандартом лікування епілепсії [57, 97, 109]. Новий прорив у цьому напрямку нейрофармакології почався з 1990-х років, коли було розроблено нове (3-є) покоління ПЕП [94, 110, 111, 112]. І якщо ще 50 років тому медикаментозне лікування судомних синдромів було відносно простим, то нині перетворилося на дуже комплексний напрям неврології, котрий охоплює кілька десятків препаратів.

Таке широке розмаїття ПЕП потребує їх структурування, але створити чітку, задовільну класифікацію досить складно з огляду на своєрідність розвитку клінічної фармакології антиконвульсантів [95]. Проте такі спроби продовжуються і на сьогоднішній день вже існує велика кількість класифікацій протиепілептичних засобів, що базуються на різних факторах. Наведемо деякі з них.

*1. Класифікація за історією винаходу і впровадження ПЕП* *[113]*

Традиційні препарати або препарати 1-го покоління – фенобарбітал, примідон, фенітоїн, карбамазепін, етосуксимід, вальпроєва кислота.

Препарати 2-го покоління (створені після 1990 р.) –  фелбамат, габапентин,  ламотриджин,  топірамат, тіагабін, окскарбазепін, клобазам, леветирацетам, зонісамід, вігабатрин.

Фармацевтичними компаніями вже розроблено **20 ПЕП наступного** – **3-го** – **покоління**, серед яких зокрема лакосамід, прегабалін, ремацемід, еслікарбазепін [114, 115].

Нині більшість наявних стандартів та рекомендацій по лікуванню епілепсії відмовилися від такої градації і використовують нейтральний термін: «препарати вибору». Уникнення однозначного визначення послідовності застосування протиепілептичних препаратів зумовлено тим, що традиційний поділ препаратів не зазначає порядок їх використання [91, 92, 113].

*2.* *Класифікація протисудомних засобів за хімічною будовою [116]*

1) Барбітурати та їх похідні (метилфенобарбітал, фенобарбітал, примідон, барбесаклон, метарбітал);

2) Гідантоїн (фосфенітоїн, фенітоїн, дифенілгідантоїн, мефенітоїн, етотоїн);

3) Оксазолідин (параметадіон, триметадіон, етадіон);

4) Сукцинімід (етосуксимід, фенсуксимід, месуксимід);

5) Бензодіазепін (клоназепам);

6) Карбоксамід (карбамазепін, окскарбазепін, еслікарбазепін, руфінамід);

7) Жирні кислоти (вальпромід, гамма-аміномасляна кислота (ГАМК), вальпроєва кислота, вігабатрин, прогамід, тіагабін);

8) Інші (султіам, фенацемід, ламотриджин, фелбамат, топірамат, габапентин, фенетурид, леветирацетам, зонізамід, прегабалін, стирипентол, лакосамід, карисбамат, ретигабін, перампанел, бекламід).

В Україні зареєстровано 14 ПЕП, серед яких тільки 7, за даними різних національних рекомендацій, можуть вважатися засобами першої лінії вибору [117, 118].

*3.* *Класифікація протиепілептичних засобів за механізмом дії* *[27, 75]*

1. Засоби, що блокують натрієві канали: дифенін, карбамазепін, вальпроат натрію, ламотриджин, топірамат.
2. Засоби, що блокують кальцієві канали Т-типу: етосуксимід, триметин, вальпроат натрію.
3. Засоби, що активують ГАМК-ергічну систему:
   1. Засоби, що підвищують афінітет ГАМК до ГАМКА – рецепторів:

бензодіазепіни (діазепам, лоразепам, клоназепам), фенобарбітал, топірамат.

* 1. Засоби, що сприяють утворенню ГАМК і перешкоджають її інактивації: вальпроат натрію.
  2. Засоби, що перешкоджають інактивації ГАМК: вігабатрин.
  3. Засоби, що блокують нейрональне і гліальне захоплення ГАМК: тіагабін.

1. Засоби, що знижують активність глутаматергічної системи:
   1. Засоби, що зменшують вивільнення глутамату з пресинаптичних закінчень: ламотриджин.
   2. Засоби, що блокують глутаматні (АМРА) рецептори: топірамат.

В основі механізму дії цих препаратів лежить зниження провідності збудження з моторної зони головного мозку, пригнічення передачі збудження з пірамідних і сегментарних спінальних шляхів на мотонейрони спинного мозку. Під впливом ПЕП пригнічується активність вставних нейронів, що порушує іррадіацію судомних імпульсів з епілептогенного вогнища. Пригнічення ритмічної біоелектричної активності вставних нейронів відбувається внаслідок зниження процесів деполяризації клітинних мембран [119, 120]. Принципіально механізми дії ПЕП заключаються або в гальмуванні активуючих нейронів, або в активації інгібуючих нервових клітин [121, 122, 123, 124]. Частина протисудомних засобів блокує поширення потенціалу дії в нейронах спинного мозку хребетних [125, 126].

Встановлено, що більшість збуджуючих нейронів є глутаматергічними [126, 127, 128]. Встановлено 5 основних сайтів зв’язування глутамату, найбільше значення з яких має підтип NMDA (селективний синтетичний агоніст – N-метил-D-аспартат) [129, 130]. NMDA-рецептори – рецептори іонних каналів і при збудженні глутаматом збільшують вхід іонів Nа+ і Са2+ у клітину [131]. Фенітоїн і фенобарбітал інгібують вивільнення глутамату із закінчень збуджуючих нейронів, нормалізуючи потенціал спокою нейронів епілептогенного вогнища. Ламотриджин блокує потенціал-залежні натрієві канали і таким чином пригнічує вивільнення глутамату через стабілізацію пресинаптичної мембрани [127, 131]. Вальпроєва кислота, як антагоніст NMDA-рецепторів нейронів, перешкоджає взаємодії глутамату з цими рецепторами.

Ще один механізм дії ПЕП полягає у активації інгібуючих нейронів, а саме ГАМК-ергічної передачі [122, 132, 133]. Фенобарбітал і бензодіазепіни при взаємодії з ГАМКА-рецепторним комплексом викликають його алостеричні зміни і підвищують вхід іонів хлору в нейрон. Карбамазепін та топірамат потенціюють функції ГАМКА рецепторів. Вальпроат у терапевтичних концентраціях сповільнює синтез ГАМК-трансамінази [124, 134, 135]. Протиепілептична дія тіагабіну забезпечується блокадою зворотного захоплення ГАМК з синаптичної щілини, вігабатрину – незворотним пригніченням ферменту ГАМК-трансамінази [136, 137]. Накопичення ГАМК у синаптичній щілині призводить до активації її взаємодії з ГАМКА-рецепторами і посиленням інгібуючого впливу на нейрони епілептогенного вогнища [137]. Механізм дії габапентину полягає у здатності посилювати утворення ГАМК з глутамату, а також безпосередньо відкривати канали для іонів калію [138].

Оксид азоту сприяє вивільненню медіаторів, головним чином глутамату, з пресинаптичного депо. Встановлено, що при епілептогенезі рівень оксиду азоту в тканинах мозку значно зростає [139]. Під впливом карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату і ламотриджину активність NO-синтази та рівень стабільного метаболіту NO в тканинах мозку знижуються, що може зменшити дію NO2 на вивільнення глутамату і, як наслідок, мати протисудомну дію [140, 141].

Крім модуляції гальмівних і активуючих медіаторних систем, протиепілептичний ефект може бути наслідком прямого впливу на іонні канали нейронів: проникнення іонів натрію і кальцію всередину клітини та вихід іонів калію з клітин [112, 142, 143]. Фенітоїн, карбамазепін і вальпроати впливають на інактивацію потенціал-залежних натрієвих і кальцієвих каналів, обмежуючи поширення електричного потенціалу. Етосуксимід блокує кальцієві канали Т-типу. Карбамазепін та ламотриджин збільшують вихідні калієві струми [144]. Окскарбазепін, 10-кетоаналог карбамазепіну, блокує високочастотну потенціал-залежну активність натрієвих каналів [112].

Більшість ПЕП нового покоління володіють комплексною дією. Топірамат діє на потенціал-залежні натрієві канали, посилює активність ГАМК і знижує глутаматергічну трансмісію, а також пригнічує карбоангідразу [112, 142].

До основних механізмів дії леветирацетаму, крім здатності блокувати Са канали N і P/Q типів, підвищувати потік іонів хлору через ГАМК- і гліцинові рецептори, блокувати потенціал-залежні калієві канали, відноситься і вплив на нейротрансмітерну передачу в головному мозку шляхом взаємодії з активним глікопротеїном синаптичних везикул SV2А [145, 146, 147].

Зонісамід є сульфаніламідним дериватом з широким спектром протиепілептичної дії, котрий реалізовує свій вплив через різні механізми – полегшення дофамінергічної і серотонінергічної нейротрансмісії шляхом блокування кальцієвих каналів Т-типу, пролонгування інактивації натрієвих каналів та легке гальмування активності карбоангідрази [142].

Основні механізми дії ПЕП наведені в табл. 1.3 [27, 148, 149].

Таблиця 1.3

**Основні механізми дії протиепілептичних препаратів**

|  |  |
| --- | --- |
| Механізм дії | Препарати |
| Блокада потенціал-залежних Nа+-каналів (↓Nа+) | Карбамазепін  Ламотриджин  Окскарбазепін  Фенітоїн |
| Множинний (в основному за рахунок блокади Nа+-каналів | Фенобарбітал (↓Nа+, Са2+, ↑ ГАМК,  ↓ глутамат)  Топірамат (↓ Nа+, Са2+, ↑ ГАМК,  ↓ глутамат)  Вальпроат натрію (↓ Nа+, Са2+,  ↑ ГАМК, ↓ глутамат)  Зонізамід (↓ Nа+, Са2+) |
| Підвищення активності гальмівної ГАМК | Клобазам (ГАМКА)  Клоназепам (ГАМКА)  Тіагабін (ГАМК в нейронах і глії)  Вігабатрин (селективний інгібітор ГАМК-трансамінази) |
| Блокатори глутаматних рецепторів | Фелбамат  Топірамат |
| Блокада Т-типу Са2+-каналів (↓ Са2+) | Етосуксимід |
| Модифікація Са2+-каналів і вивільнення нейротрансмітерів | Габапентин  Прегабалін |
| Новий, пов'язаний з синаптичними везикулами SV2A | Леветирацетам |

Примітки: ↓ - гальмуючий вплив на мембранний потенціал нейронів,

↑ - активуючий вплив на мембранний потенціал нейронів.

* 1. **Терапевтична резистентність до дії антиконвульсантів**

Незважаючи на постійний розвиток фармакотерапії епілепсії і появу нових ПЕП, проблема фармакорезистентності залишається ключовою в епілептології – майже 30% хворих залишаються резистентними до фармакологічного лікування [8, 9, 150, 151]. Також принциповими і актуальними є питання, які вимагають свого вирішення: чи можливо передбачити фармакорезистентність і мінімізувати її вплив на якість життя, чи можна вплинути на природний перебіг резистентної епілепсії? [23, 36, 152].

Визначення резистентної до лікарських засобів епілепсії зазвичай включає кількість ПЕП невдач і мінімальну ремісію або частоту нападів протягом певного періоду терапії. Наприклад, критерії включення додаткових ПЕП для лікування часто потребують чотири складні парціальні напади з або без вторинної генералізації за 28 днів протягом 2-місячного базового періоду, незважаючи на адекватне лікування від одного до трьох ПЕП з визначенням нападів фармакорезистентними чи медично рефрактерними [153, 154].

Ряд авторів визначає резистентну, або некурабельну, епілепсію, коли контроль над нападами не спостерігається на фоні двох адекватних і добре переносимих ПЕП, що приймаються в якості монотерапії або на фоні першого вибору і першого режиму комбінації [36, 155]. Броді окреслює медикаментозну рефрактерність як функцію «числа безуспішних ПЕП» [36].

При цьому, здавалося б, ясному для клініциста змісті, межі терміну «резистентність» були досить розмиті. Для досягнення взаєморозуміння між спеціалістами недавно була зроблена спроба уніфікації поняття. Комісією Міжнародної протиепілептичної ліги у 2010 р. було прийнято єдине визначення фармакорезистентної епілепсії: «Фармакорезистентна епілепсія – це невдача адекватного лікування двома переносимими, відповідно обраними і використаними схемами протиепілептичних лікарських засобів (у монотерапії або в комбінації) у досягненні контролю над нападами» [156, 157].

Встановлено, що фармакорезистентність частіше зустрічається у пацієнтів з парціальними нападами [151]. До поганих прогностичних факторів щодо розвитку фармакорезистентності відносяться: низька відповідь на перший ПЕП, сімейний анамнез, висока частота нападів, наявність певних типів структурних уражень головного мозку, інтермітуюче рекреаційне застосування препаратів, супутні психічні розлади, зокрема, депресія [158, 159, 160, 161, 162].

При резистентних епілептичних захворюваннях тяжкість і частота нападів, неврологічні та психіатричні супутні симптоми чи побічні дії лікарських засобів не піддаються задовільній корекції і не прийнятні для хворого і/або його близьких [115, 152].

Оскільки поняття «резистентність епілепсії» визначається широким діапазоном змінних, то під нього підпадають досить гетерогенні синдроми, що мають різний прогноз і потребують у кожному випадку свого підходу.

Фармакорезистентна епілепсія – мультифакторіальний феномен, в основі якого лежать численні генетичні і набуті механізми, а саме, сукупність індивідуальних особливостей конкретного організму, особливостей перебігу епілепсії та факторів зовнішнього середовища [12, 13, 14]. Загалом терапевтична, або лікарська, резистентність поділяється на первинну (ПЛР) і вторинну (ВЛР) [15, 16].

При ПЛР вже на початку лікування не спостерігається протисудомного ефекту при застосуванні антиконвульсанта. Причини такого явища можуть бути різноманітними. Вважається, що у більшості випадків епілепсія виникає з генетичних причин або пов’язана з ними [19, 20, 163]. Деякі типи епілептичних нападів виникають через один дефектний ген (1-2%). Наразі відомо про більше ніж 200 дефектів у поодиноких генах [164]. Так, недавно описаний випадок синдрому Панайотопулоса з доведеною мутацією SCN1A. Наслідком мутацій гену SLC2A1 є дефіцит Glut1, що призводить до епілептичних нападів вже в перші місяці життя [33]. Також виявлена асоціація С3435Т поліморфізму з фармакорезистентністю у хворих з різними видами епілепсії [21]. Генетичний поліморфізм ДНК, експресія пар нуклеотидів якої регулює синтез білків рецепторів нейрональних мембран, білків ферментів синтезу та метаболізму нейромедіаторів, призводить до неналежного функціонування [іонних каналів](http://uk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%86%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D0%B8%D1%85_%D0%BA%D0%B0%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D1%96%D0%B2&action=edit&redlink=1), [білків](http://uk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%91%D1%96%D0%BB%D0%BA%D1%96%D0%B2&action=edit&redlink=1), [ГАМК-рецепторів](http://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%90%D0%9C%D0%9A-%D1%80%D0%B5%D1%86%D0%B5%D0%BF%D1%82%D0%BE%D1%80) та [рецепторів, сполучених із G-білком](http://uk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A0%D0%B5%D1%86%D0%B5%D0%BF%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%96%D0%B2,_%D1%81%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D1%83%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%85_%D1%96%D0%B7_G-%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%BE%D0%BC&action=edit&redlink=1) [13, 20, 21, 163].

Важливо відзначити, що генні поліморфізми, що відповідають за фармакорезистентність, можуть формуватися у промоторних зонах, у нітронах і у екзонах. Генні поліморфізми в межах кодуючих областей таких генів можуть призвести до відмінностей в іонних каналах чи транспортних білках, що передує виникненню епілепсії. Поліморфізми в промоторних зонах, які впливають на транскрипцію таких генів, можуть вплинути на активність – залежну транскрипційну регуляцію цих генів нападами. Це забезпечить потенційний механізм для набуття фармакорезистентного фенотипу протягом епілептогенезу у фармакорезистентних, на відміну від фармакочутливих, пацієнтів [161]. Більшість епінападів, як показано, розвивається в умовах комбінації генних та зовнішніх факторів [13, 20].

Відомо, що серед найближчих родичів хворих на епілепсію захворюваність вище, ніж у популяції (близько 4%). Проте, крім синдрому доброякісних неонатальних судом, сімейні випадки захворювання рідкісні. Вважається, що передається не саме захворювання, а лише спадкова схильність до захворювання [12].

Крім того, відсутність протисудомної дії можна пояснити розбіжністю між нюансами патогенетичних ланок клінічних форм епілепсії та механізмами протисудомного впливу антиконвульсантів. Відповідно до сучасної класифікації нараховується до 50 різних клінічних форм епілепсії, кожна з яких детермінована характерним для неї патогенетичним механізмом розвитку судомних станів та їх фармакорезистентності [1, 165].

Більше того, в останні роки розвивається положення щодо міжпівкульної нейропсихофармакології. При локалізації вогнища епілептогенної активності в одній півкулі, а переважної (домінантної) дії антиконвульсанта на іншу півкулю головного мозку навряд чи можна очікувати протисудомного ефекту [166, 167, 168].

При ВЛР формування фармакорезистентності може бути пов’язане власне і з самим захворюванням, що проявляється у прогресуванні епілептогенезу [26]. Фактори, пов'язані з патогенезом епілепсії, можуть відігравати важливу роль в ряді епілептичних порушень, які зазвичай несприйнятливі до ПЕП, таких як інфантильні епілептичні енцефалопатії і скронева епілепсія з гіпокампальним склерозом. Вважається, що такі порушення призводять до ранніх нападів, що спостерігаються протягом початкової гострої фази епілептогенезу. Вони, в свою чергу, індукують каскад подій, тобто самі епілептичні напади можуть запускати кіндлінг-механізм, один з основних механізмів прогредієнтності епілепсії з формуванням резистентності [23, 24]. Далі ці судомно-залежні процеси призводять до вторинного самопідтримуючого епілептогенного механізму, або іншими словами, кожний новий епілептичний напад відкриває дорогу наступному [169].

В найбільш загальному плані поняття «резистентності» слід відносити до конкретного препарата або конкретної стратегії лікування [12, 27]. Звідси випливає принципіальна можливість виходу з такої ситуації, яку, на жаль, не завжди вдається реалізувати. В цьому плані резистентність можна поділити на: відносну, умовну і абсолютну. Невдалий підбір препарата, порушення режиму лікування, вплив несприятливих факторів призводять до відносної резистентності [75, 170]. В таких випадках хворому або необґрунтовано замінюють препарат, або ж призначають невиправдано масивну терапію. Із збільшенням тривалості лікування зростає також і ймовірність та ступінь розвитку у пацієнта реальної фармакорезистентності. Цей факт пояснюється ятрогенними змінами чутливості нейротрансмітерних рецепторів до препаратів, що часто замінюють і випадково комбінують [27, 171].

Якщо застосування двох основних препаратів першої лінії для даної форми епілепсії в моно- чи комбінованій терапії з умовною межею 4 і більше нападів на місяць не проявляє терапевтичного ефекту, то говорять про умовну резистентність. Усунути таку резистентність вдається за допомогою нових препаратів чи додаткової терапії [30, 171].

В іншому випадку можуть бути запущені ендогенні механізми, що призведуть до розвитку абсолютної медикаментозної резистентності, що не піддається лікуванню жодним ПЕП. Майже 30% хворих на епілепсію не реагують на будь-які комбінації препаратів, включаючи нові, в максимально переносимих дозах, що забезпечують терапевтичну концентрацію в плазмі крові. Проте «абсолютність» має ситуаційний характер, наприклад, у дитини в процесі розвитку мозку епілепсія може перейти у курабельну форму [27, 171, 172].

При абсолютній резистентності спостерігається відсутність ефекту від:

1) монотерапії одним з двох основних антиконвульсантів в максимально переносимих пацієнтом дозуваннях;

2) політерапії у вигляді комбінації двох основних антиконвульсантів;

3) політерапії у вигляді комбінації одного основного антиконвульсанта з антиконвульсантом останнього покоління [172, 173].

Але існують й інші погляди. Відносною резистентністю вважають таку форму епілепсії, лікування якої двома ПЕП не дає позитивного ефекту, а абсолютно резистентною – після неефективного застосування шістьох антиконвульсантів [174].

Необхідно враховувати умовність даних визначень, оскільки зміни стану організму хворого, гормональні або вікові перебудови в організмі та інші фактори можуть значною мірою змінювати чутливість до антиконвульсанта [23, 175].

Поняття некурабельності частково є суб’єктивним, оскільки включає компонент оцінки свого стану хворим, тому в деяких випадках можуть виявитися ефективними методи нелікарської терапії, зокрема аутогенне тренування, методи біологічного зворотного зв’язку. Але головна роль в купіруванні нападів належить все ж таки фармакотерапії [176].

Вторинна резистентність, або толерантність, формується у процесі тривалого застосування лікарського засобу, як захисна реакція організму на дію ксенобіотиків, до яких відносяться протисудомні препарати, і проявляється у зниженні чутливості до  дії ЛП, тобто у  зменшенні інтенсивності його фармакологічного ефекту [177, 178]. Як правило, толерантність супроводжується частковою або повною втратою терапевтичного ефекту без розвит­ку залежності [108, 179]. ВЛР є по суті викликаним синдромом, що сформувався внаслідок вживання лікарського засобу. Вона не розглядається як один з побічних ефектів препарата, а відображає притаманну даному ЛЗ фармакологічну дію [15].

Необхідно відзначити, що толерантність – фундаментальна біологічна характеристика живого організму – спрямована на підтримку гомеостазу і трактується як адаптація організму до пролонгованого впливу хімічних речовин (ксенобіотиків), які є чужорідними для організму [180]. Толерантність розглядається як адаптивне пристосування на суборганізмовому рівні, для організму в цілому вона може призвести до несприятливих наслідків. При розвитку толерантності фізіологічні відповіді організму вгасають необов’язково одночасно і в рівній мірі по відношенню до усіх видів дії (ефектів) даної речовини.

Таким чином, тривалий прийом антиконвульсантів є передумовою розвитку толерантності до їх протисудомного впливу. Епілепсія відноситься до хронічних неврологічних хвороб, що потребує довгострокового, інколи протягом всього життя призначення протисудомних лікарських засобів. Тому створюються умови для розвитку терапевтичної резистентності майже у всіх хворих на епілепсію [28].

Одним з перших препаратів, дослідженим експериментально щодо розвитку толерантності до його протисудомної дії, був ацетазоламід (AZM) [181]. Незабаром після демонстрації функціональної толерантності до AZM в експерименті, була опублікована інформація про втрату протисудомної ефективності в клініці [182]. З тих пір експериментальні дослідження очевидно демонструють втрату ефективності інших ПЕП протягом їх тривалого застосування [183, 184].

Толерантність не є суворо специфічною, тобто при її виникненні до певного ефекту якого-небудь ксенобіотика, можлива втрата чутливості по відношенню до того ж ефекту іншого препарату даної фармакологічної групи [25]. Зниження ефективності спостерігається як при одночасному введенні ліків, так і при пролонгованому в часі. Функціональна перехресна толерантність до протисудомної ефективності ПЕП була вперше продемонстрована для бензодіазепінів [185], що не дивно, оскільки ці сполуки діють за тими ж механізмами (тобто, потенціювання ГАМК-опосередкованого інгібування дії через BZD сайт ГАМКА рецептора) [186].

Кіндлінгова модель широко використовується для вивчення перехресної толерантності між різними ПЕП [187]. Розвиток перехресної толерантності між препаратами вказує на однакові механізми їх дії, що дозволяє допустити взаємодію таких речовин з однією і тією самою біомішенню [28, 188, 189]. CBZ формує перехресну толерантність до LTG [169,179]. Обидва антиконвульсанти діють щляхом модуляції потенціал-залежних натрієвих каналів. Відсутність перехресної толерантності між CBZ і РНТ є несподіваною, оскільки ці препарати теж діють, як вважається, насамперед, за допомогою модуляції потенціал-залежних натрієвих каналів [169,186]. Перехресна толерантність до CBZ спостерігалася після тривалого введення LEV [190]. Не встановлено розвитку перехресної толерантності між препаратами з різними механізмами дії: бензодіазепінами і карбамазепіном або ламотриджином [169, 186].

Можливий гострий і поступовий розвиток толерантності. Гостра толерантність проявляється відсутністю відповіді на одноразове введення препарату. Відсутність відповіді на друге введення препарату протягом 8-24 год, тобто після припинення дії першої дози, називають швидкою толерантністю, або тахіфілаксією [9, 178].

Випадкова толерантність – варіант умовної толерантності, максимальному розвитку якої сприяє збіг прийому препаратів з тими чи іншими патернами поведінкової активності [9, 178].

Для того, щоб розробити шляхи подолання толерантності, необхідно мати чіткі уявлення про особливості формування і механізми розвитку цього феномена. Показано, що зниження чутливості до дії протисудомних засобів може бути пов’язано із:

1. змінами фармакокінетичних параметрів антиконвульсантів при їх тривалому введенні, або розвитком фармакокінетичної толерантності;
2. змінами функціонування нейромедіаторних систем мозку, різні ланки яких є мішенями фармакологічного впливу ПЕП, або розвитком фармакодинамічної толерантності, – мішенева гіпотеза;
3. порушенням транспорту ПЕП до мішеней їх дії – транспортна гіпотеза.

Фармакокінетична толерантність до  дії препарату розвивається внаслідок зміни в розподілі чи підвищенні швидкості його метаболізму [191]. Що ж при цьому відбувається? Багато протиепілептичних препаратів «першої генерації», серед яких фенобарбітал, карбамазепін і фенітоїн, стимулюють індукцію печінкових мікросомальних ферментів [192, 193, 194]. Це, в свою чергу, індукує посилений метаболізм препарата в печінці, що зменшує його концентрацію в плазмі і, як наслідок, знижується ефективність. Ці ж ензими прискорюють також метаболізацію інших препаратів, як інших фармакологічних груп, так і решти антиконвульсантів, що пояснює формування перехресної толерантності між протисудомними препаратами. Таким чином, серед ПЕП першого покоління, фармакокінетична толерантність має невелике значення при лікуванні одним препаратом [178]. Слід зазначити, що фармакокінетична толерантність не відмічена для більшості нових ПЕП (GBP, LTG, LEV, TGB, TPM, VGB, і ZNS), які були розроблені спеціально, щоб бути вільними від ензим-індукуючих властивостей.

Різні лікарські засоби можуть підвищувати або знижувати активність мікросомальних ферментів. Інформація про шляхи біотрансформації антиконвульсантів, а точніше про те, якими ізоферментами цитохрома Р-450 метаболізується препарат, має велике клінічне значення. Індивідуальна активність ізоферментів цитохрома Р-450 може суттєво впливати як на ефективність, так і на безпеку антиконвульсантів [195]:

1) при низькій активності ізоферменту цитохрома Р-450 можливе підвищення концентрації препарата, що метаболізується даним ізоферментом, і внаслідок цього – розвиток небажаних лікарських реакцій;

2) при високій активності ізоферменту цитохрома Р-450 може знижуватися концентрація препарата, що метаболізується даним ізоферментом, з цієї причини – відсутність його ефективності.

На даному етапі можлива зміна фармакокінетики основного препарату, якщо він вводиться в комбінації з іншими препаратами. Особливу увагу слід приділити комбінації препаратів, в складі яких є індуктори (фенобарбітал, карбамазепін, фенітоїн) та інгібітори (депакін) печінкових ферментів. Так, індуктори мікросомальних ферментів печінки спричинюють зниження концентрації інших препаратів в крові. Крім того, може знизитися і концентрація самого фермент-індукуючого препарату за рахунок індукції ферментів. Це призведе до зниження ефективності самого препарату – індуктора. Інгібітори ферментів системи цитохрому Р-450, навпаки, підвищують вміст інших антиконвульсантів [27].

З метою попередження реакцій міжлікарської взаємодії (розвиток небажаних лікарських реакцій чи недостатня ефективність медикаментозної терапії) в США уже протягом декількох років діють директиви FDA, відповідно до яких будь-який новий ЛЗ повинен бути вивчений з точки зору його біотрансформації (яким ізоферментом цитохрома Р-450 метаболізуться), а також можливого інгібуючого чи індукуючого впливу на активність ізофермента цитохрома Р-450 [191].

На сьогодні виділено більше 1000 ізоферментів цитохрома Р-450, щонайменше вісім ізоферментів беруть участь у метаболізмі ПЕП [8, 196].

Варто зазначити, що частину випадків малокурабельної епілепсії власне і пов’язують з відсутністю стабільного рівня ПЕП у плазмі крові. Тому з метою підвищення клінічної ефективності терапії проводять терапевтичний лікарський моніторинг (ТЛМ), або визначення концентрації лікарського препарата в плазмі крові [197, 198, 199, 200, 201]. ТЛМ в даний час є реальним інструментом для персоналізованої фармакотерапії. В 2008 р. були прийняті міжнародні практичні рекомендації Міжнародною протиепілептичною лігою [102]. В них рівень доказовості для ТЛМ антиконвульсантів був визначений як 2, тобто ТЛМ рекомендується для оптимізації терапії [202, 203]. Зокрема, для карбамазепіну було показано, що при тривалому застосуванні препарату відбувається аутоіндукція метаболізму з наступною зміною його ефективності та необхідності проведення ТЛМ [202, 204, 205]. Слід зазначити, що ПЕП, введені в клінічну практику після 1993 року, мають лінійну фармакокінетику, мінімальні лікарські взаємодії і широкий терапевтичний діапазон, що робить визначення їх концентрації менш актуальним у порівнянні з ТЛМ традиційних препаратів [195].

Функціональна толерантність пов’язана з компенсаторними змінами рецепторів, ефекторних ферментів або дії речовин на  мембрани [206]. Широко визнано, що ефективність ПЕП визначається їх здатністю долати гематоенцефалічний бар'єр і зв'язуватися з інтрапаренхімальними сайтами-мішенями [207, 208]. Мішені – це вольтаж-залежні іонні канали, нейротрансмітерні рецептори і транспортери або метаболічні ензими, що включають вивільнення, захват і метаболізм нейротрансмітерів. Згідно мішеневої гіпотези, внутрішні (генетичні) і набуті (пов'язані із захворюванням) зміни призводять до того, що сайти-мішені структурно та/або функціонально модифіковані таким чином, що вони стають менш чутливими до ПЕП [158, 207, 209]. Гіпотеза базується насамперед на дослідженнях, що вказують на зниження чутливості потенціал-залежних натрієвих каналів до карбамазепіну в епілептогенній мозковій тканині (нейронах гіпокампу) від пацієнтів, що не звільнилися від нападів при отриманні цього ПEП і зазнали резективної хірургії [206, 210]. Механізми даної гіпотези пов’язані, по-перше, з тим, що потенціал-залежні Na+ канали – головна мішень багатьох протисудомних препаратів першої лінії, і механізм їх дії широко досліджений на культурах клітин і нейронах. Так, однією з причин зміни чутливості Nа+ каналів у епілептичній тканині вважають експресію субодиниць чи комбінації субодиниць, що нечутливі до ПЕП [211, 212]. Особливо підкреслюється потенційна роль b1 субодиниці у розвитку фармакорезистентності [213, 214].

Крім того, субодиниці іонного каналу можуть бути модифіковані шляхом окисно-відновної модуляції або фосфорилювання. Ендогенне фосфорилювання значно знижене в «епілептогенній» корі головного мозку в порівнянні з контролем. Ця дисфункція ймовірно сприяє генерації судом і/або переходу від міжприступного до іктального стану [215].

Ще одна причина – порушення ГАМК-медіаторної інгібіції. Порушення експресії субодиниць ГАМКА-рецепторів (зниження a1-, b1- і підвищення експресії a4- та d-субодиниць) – одна з причин резистентності.

При епілептичному статусі описана «інтерналізація» ГАМКА-рецепторів, тобто переміщення рецепторів з синаптичної мембрани в субмембранний компартмент. Це викликає зменшення кількості функціонуючих постсинаптичних ГАМКА-рецепторів і резистентності до ГАМК-міметичних препаратів.

Зсув від інгібування у дорослих до неонатальної збудливості ГАМКА-рецепторів теж призводить до модифікації сайту-мішені. Це пов’язано з підвищенням рівня нейронального хлору і зміною експресії хлоридних транспортерів.

Було показано, що судомна активність викликає індукцію другого месенджевого каскаду, який індукує фосфорилювання іонних каналів і, як наслідок, впливає на ефективність деяких ПЕП [216]. Функція індивідуальних рецепторів та іонних каналів у зниженні чи підвищенні збудливості може залежати від середовища, що оточує клітину. Таким чином, мішеневі модифікації повинні розглядатися в контексті хронічно зміненого мозку. Перспективними новими мішенями можуть бути лікарські мішені в гліальних клітинах [217].

Продемонструвати виникнення фармакодинамічної толерантності в пацієнта, який не відповідає на раціональну фармакотерапію, набагато важче, ніж виникнення фармакокінетичної толерантності. Фармакодинамічна чи функціональна толерантність пов’язана з адаптивними пристосуваннями всередині систем, на які впливає лікарський засіб. Зміни рецепторної щільності, чутливості (десенситизації) є прикладами даного типу толерантності [178, 218]. Відомо, що зміна числа рецепторів на клітинній мембрані визначається і прискореним видаленням – секвестрацією, зміною швидкості синтезу рецепторів, підвищенням розпаду рецепторів чи взаємодією цих процесів [219]. При цьому зменшується відповідь на дану концентрацію препарата. На жаль, розвиток саме функціональної фармакодинамічної толерантності притаманний всім антиконвульсантам, в тому числі й новим [178, 220]. Функціональна толерантність може привести до повної втрати ПЕП-активності і крос-толерантності до інших ПЕП. У всіх антиконвульсантів, толерантність до ефективності і побічних ефектів є переважно функціонального типу, в той час як фармакокінетична толерантність важлива тільки для фермент-індукуючих, переважно ПЕП першого покоління. У цьому відношенні, важливо відзначити, що фармакокінетична толерантність може відігравати важливішу роль в перехресній толерантності [178].

Порушення транспорту ПЕП до мішеней їх дії – ще один можливий механізм виникнення толерантності до антиконвульсантів. Транспортна гіпотеза припускає, що рівні ПEП знижуються в їхніх мозкових мішенях через надлишкову експресію транспортерів, що сприяє відтоку препарата з епілептогенних областей мозку [158, 207, 208, 221]. При цьому навіть за наявності адекватних рівнів сироватковавих ПЕП спостерігаються недостатні концентрації інтрапаренхімальних ПЕП [222]. Підвищена експресія в мозку транспортерів відтоку може бути або результатом тривалих чи частих нападів, як показано в моделях судомних нападів на гризунах, або генетичних факторів, таких як поліморфізми в MDR1 гені, або, теоретично, обох [207, 223].

Ліпофільні речовини, до яких відносяться ПЕП, транспортуються через ГЕБ за допомогою ряду протеїнів, зокрема, Р-глікопротеїна (Pgp) і MRP-протеїнів (Multidrug Resistance associated Protein), що знаходяться в мембрані ендотелія капілярів [207, 224, 225, 226, 227]. Більшість ПЕП (фенітоїн, фенобарбітал, окскарбазепін, ламотриджин, габапентин, фелбамат, топірамат) – субстрат для Р-глікопротеїна, а деякі (вальпроат, фенітоїн) також транспортуються до ГЕБ і за допомогою MRP [227]. Єдиним винятком вважається леветирацетам (не є субстратом для Р-глікопротеїна) [24]. Протирезистентні ефекти цього ПЕП в даний час добре відомі клініцистам.

Трансмембранні білки, що функціонують як насоси відтоку лікарських препаратів, кодуються генами, що належать до суперсімейства аденозин трифосфат-зв’язуючих касетних (АВС) білків [228]. P-gp, кодується MDR1, систематична номенклатура ABCB1; мультилікарський асоційований з резистентністю протеїн 1 (MRP1), також відомий як ABCC1, і мультилікарський асоційований з резистентністю протеїн 2 (MRP2), кодуються ABCC [229, 230, 231]. В літературі зустрічається достатньо експериментальних доказів транспортної гіпотези. Так, у щурів, резистентних до фенобарбіталу, виявлена значна надекспресія P-gp у лімбічній області мозку у порівнянні з щурами, що реагують на фенобарбітал. У іншому дослідженні встановлено, що MRP2-дефіцитні кіндлінгові щури мають вищі рівні РНТ у головному мозку і чутливіші до лікування РНТ, ніж інтактні тварини [232, 233].

Підвищена експресія мультилікарських протеїнів виявлена в клітинах ендотелія капілярів ГЕБ і в астроцитах хворих з множинною резистентністю до ПЕП, тобто саме в епілептогенних вогнищах хворих з некурабельною епілепсією. Вважають, що наявність надлишкової кількості цих транспортерів в епілептогенних тканинах, що перешкоджають проникненню ліпофільних препаратів в нейрони, є основним механізмом, що лежать в основі множинної резистентності до ПЕП [221, 234].

Очевидно, що вказані механізми не взаємовиключають один одного, а працюють в синергії при формуванні фармакорезистентності. Хоча це не виключає можливості ідентифікувати для деяких ПЕП домінуючі механізми. Зокрема, головним механізмом втрати чутливості до карбамазепіну, швидше за все, слугують зміни (чи блокада) натрієвих каналів, що вказує на мішеневий механізм цього препарату [215], в той час як інтрапаренхімальна концентрація фенітоїну суттєво регулюється мультилікарськими транспортерами [232].

Незважаючи на всі успіхи клініцистів, фармакологів і нейрофізіологів, навіть при правильно встановленому діагнозі епілепсії і своєчасно призначеному лікуванні, питання фармакорезистентності залишається відкритим і донині [68]. Які ж кроки можуть сприяти подоланню толерантності?

1. Протягом останніх 10-15 років намітився прогрес у розгадці механізмів, що лежать в основі резистентності при епілепсії. Більш глибоке розуміння молекулярних основ зміненої чутливості до ПЕП дасть можливість прогнозувати розвиток некурабельних форм епілепсії ще в дебюті захворювання. Це, в свою чергу, дасть змогу вчасно коригувати тактику лікування, а саме заміни препаратів з іншим механізмом дії, що дозволить поліпшити результати лікування у пацієнтів з рефрактерною епілепсією [16].

2. ПЕП блокують напади у хворих на епілепсію, але в даний час немає ніяких доказів того, що вони в змозі поліпшити перебіг захворювання і запобігти розвитку фармакорезистентної епілепсії [137]. Саме тому майбутні дослідження мають бути спрямовані на виявлення нових лікарських мішеней з метою розробки нових препаратів для лікування епілепсії. Це дозволить сформулювати нові стандарти лікування і сприятиме реальному прогресу епілептології в цілому [78, 115, 153].

3. Прогрес у генетичних дослідженнях у зв’язку з швидким розвитком геномних технологій дасть змогу ідентифікувати гени-кандидати, які впливають на різну ефективність ПЕП та розвиток фармакорезистентності, і може спонукати до нового розуміння молекулярних механізмів, що лежать в основі резистентних форм епілепсії [13, 20].

4. Інформація про конкретні механізми резистентності може також використовуватися для проведення потенційного лікування інгібіторами лікарських транспортерів у поєднанні з ПЕП. Найпростіша схема, в якій можуть бути використані такі сполуки, полягає в сумісному лікуванні з ПЕП. Сумісне введення високоселективного P-gp інгібітора, tariquidar, реверсує ПЕП резистентність [216, 235, 236]. Показано, що інгібування P-gp tariquidar значно підвищувала рівні РНТ в гіпокампі [237, 238].

Згідно “Європейської ініціативи дослідження з розробки візуалізації зондів для ранньої in vivo діагностики та оцінки відповіді на терапевтичні речовини” досліджуються причини лікарської резистентності у пацієнтів з неврологічними захворюваннями, у тому числі епілепсії. Основною метою є розвиток нових лігандів, в тому числі 11C-мічених ПЕП, з метою дослідження змін у функціонуванні і експресії P-gp при епілепсії, що зрештою дозволить ідентифікувати пацієнтів, які отримали перевагу від сумісного введення ПЕП з P-gp інгібіторами [238].

Отже, аналіз даних літератури свідчить, що на теперішній час не існує патогенетичних засобів лікування різних форм епілепсії. Антиконвульсанти, які застосовуються при епілептичних нападах, справляють симптоматичний вплив на перебіг захворювання. Проблема фармакотерапії ускладнюється ще й тим, що до протиепілептичних засобів можливе формування терапевтичної резистентності. Проте загальновизнані положення щодо причин розвитку толерантності до дії антиконвульсантів відсутні. Також вкрай обмежені експериментальні відомості у цьому напрямку. Можливо, це пов’язано зі складністю моделювання епілептичних розладів, адекватних клінічним проявам епілепсії.

Все це робить актуальною розробку наукового напрямку досліджень щодо закономірностей розвитку толерантності, визначення механізмів формування толерантності до дії антиконвульсантів: карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату, ламотриджину, які, згідно директив ВООЗ, є препаратами вибору при лікуванні епілепсії.

**РОЗДІЛ 2**

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

**2.1 Характеристика експериментальних тварин**

Експериментальні дослідження проведені на 1100 нелінійних білих мишах – самцях та самицях масою 18-24 г та 192 статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях масою 180-230 г, які були розведені в ПП «Біомодельсервіс».

Усі миші та щури отримували  *ad libitum* стандартний комбінований корм для лабораторних тварин марки ПК-120-5 виробництва АТЗТ «Фенікс» та питну воду із міського водогону. Відповідно до санітарно-гігієнічних норм у приміщенні підтримували стандартний режим утримання тварин: температура повітря: 22±2ºС, вологість повітря – 50-70%, циклічність освітлення кімнати: 12 годин світла/12 годин темряви [239, 240].

Термін акліматизації тварин тривав 10 діб. Після акліматизації була проведена процедура рандомізованого відбору тварин.

Всі експериментальні процедури проводили відповідно до правил «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою» (1986), «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях» (1989) та «Доклінічними дослідженнями лікарських засобів» під редакцією О.В. Стефанова [239, 241, 242].

**2.2 Характеристика досліджуваних препаратів та рецепторних аналізаторів нейромедіаторних систем**

В експериментах використані наступні лікарські засоби, які вивчались в терапевтичних дозах для тварин згідно літературних даних:

1. Карбамазепін в дозі 125 мг/кг (табл. 200 мг, Карбамазепін-Здоров’я, виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров’я», Україна) [243].

2. Вальпроат натрію в дозі 155 мг/кг (табл. 500 мг, Депакін Хроно виробництва Sanofi-Aventis, Франція) [244].

3. Ламотриджин в дозі 30 мг/кг (табл. 50 мг, Ламотрин, виробництва ТОВ «Фарма Старт», Україна) [245].

4. Топірамат в дозі 300 мг/кг (табл. 200 мг, Топілепсин, виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров’я», Україна) [246].

5. Фенобарбітал в дозі 20 мг/кг (Фенобарбітал, субстанція виробництва ТОВ «Харківське фармацевтичне підприємство «Здоров’я народу») [247].

Для досліджень використовували речовини у вигляді гомогенних порошків, отриманих шляхом подрібнення та розтирання таблеток та вмісту капсул у фарфоровій ступці. Оскільки дані лікарські форми не повністю розчиняються у водному середовищі, приготування гомогенних субстанцій проводили з використанням поверхнево-активної речовини – детергенту «Твін-80» у концентрації 0,2%. Суспензії досліджуваних речовин готували безпосередньо перед їх введенням лабораторним тваринам. Розведення готували таким чином, щоб тварини отримували препарат з розрахунку 0,1 мл/10 г маси тіла. Індивідуальні дози для тварин дослідної групи розраховували з урахуванням маси тіла кожної з особин в день введення. В якості розчинника застосовували фізіологічний розчин натрію хлориду (Натрію хлорид, розчин для інфузій 0,9% в ампулах, виробництва ЗАТ «Інфузія», Україна).

Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин хлориду натрію у відповідному об’ємі.

Під час виконання роботи були використані такі аналізатори:

1. ГАМК-рецепторів – коразол (100 мг/кг) [248], тіосемікарбазид (20 мг/кг) [249], пікротоксин (6 мг/кг) [250], бікукулін (20 мг/кг) [251];

2. гліцинових рецепторів – стрихнін (1,5 мг/кг) [252];

3. глутаматних рецепторів – каїнова кислота (30 мг/кг) [244];

4. лібератора серотоніну із пресинаптичного депо – резерпін (15 мг/кг) [253] (всі вказані речовини виробництва фірми «Sigma», США).

Емульгатор – Твін-80, виробництво «Merck», Німеччина.

Аналізатори вводилися в/ч, через 1 год після введення антиконвульсантів нетолерантним та толерантним до дії протисудомних засобів тваринам. Виняток становив тіосемікарбазид, який вводився одночасно з протиепілептичними препаратами [247, 254].

**2.3 Експериментальні моделі судомних станів**

Для експериментальних досліджень були використані декілька моделей епілепсії, на різних видах тварин, відповідно до методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України – максимальний електрошок (МЕШ), пентилентетразолові (коразолові) конвульсії, тіосемікарбазидні судоми [248, 254, 255, 256].

Інтенсивність судомного нападу оцінювали за допомогою 5-бальної шкали, узявши за основу наступні критерії (враховуючи кількість тварин, що загинули) [257]:

0 – відсутність судомної активності;

1 – тремор голови, судомні здригання, стрибки;

2 – клонічні судоми передніх лап з підйомом на задні лапи;

3 – виражені тоніко-клонічні судоми, падіння тварини на бік, присутня

фаза тонічної екстензії задніх кінцівок;

4 – повторні клоніко-тонічні судоми, загибель тварини.

Враховували також латентний період розвитку перших судомних проявів (посмикування, стрибки), кількість тварин, у яких розвивався розгорнутий клоніко-тонічний напад, летальність. Протисудомним впливом уважали захист тварин від розвитку клонічних, тонічних судом, летальності.

Ефект препаратів оцінювали за їх здатністю:

- попереджувати виникнення симптому Штраубе,

- попереджувати розвиток клонічних судом,

- попереджувати розвиток клоніко-тонічних судом,

- усувати летальність.

**2.3.1 Електроіндуковані судоми**

Максимальний електрошоковий тест (МЕШ) використовують для оцінки здатності препарату запобігати розповсюдженню великого судомного нападу [255, 258, 259]. Електричний шок, проходячи дифузно через мозок, вибірково впливає на структури з найменшим порогом (гіпокамп, лімбічна система, гіпоталамус). Вважається, що властивість препарату попереджувати максимальні судоми при проведенні електрошоку пов’язане з його властивістю попереджувати поширення імпульсу по нервовій тканині 250.

Максимальний електрошок викликали за допомогою вушних електродів, використовуючи надпорогове подразнення постійним струмом (50 Гц, сила струму 50 мА), тривалістю 0,2 секунди. Електричні стимули подавали за допомогою електростимулятора «ИСЭ-1». Безпосередньо перед накладенням зажимів з електродами вушні раковини тварини протирали фізіологічним розчином для забезпечення максимальної електропровідності. Після цього подавали струм. Оцінювали кількість мишей з тонічними судомами і тривалість судом. Критерієм протисудомної активності сполуки вважали повний захист від тоніко-екстензорної фази судомного нападу у тварин [255, 260].

**2.3.2 Хемоконвульсантні моделі судом**

В експерименті генерацію судомних розрядів можна викликати або гіперактивацією збуджуючих медіаторів, або зниженням активності гальмівних нейротрансмітерів. Саме тому для моделювання еквівалентів епілепсії з метою вивчення нейромедіаторних механізмів формування толерантності були використані селективні антагоністи гальмівних механізмів мозку (ГАМК, гліцин) і агоністи збудливих систем (глутамат) [131, 247, 255].

ГАМК проявляє сильний інгібуючий вплив на збудливість головного мозку за рахунок підвищення проникності хлорних каналів. В той же час антагоністи ГАМК-рецепторів – коразол, бікукулін – є потужними судомними агентами. Зокрема, коразолові судоми обумовлені зміною ГАМК-бензодіазепінового рецепторного комплексу, бікукулінові – з антагонізмом β-субодиниці ГАМКА-рецепторів. Інгібітор синтезу ГАМК – тіосемікарбазид – також є сильним судомним ядом.

Гострий напад клоніко-тонічних судом моделювали на мишах шляхом одноразової в/ч ін’єкції аналізатора. Коразол вводили в дозі 100 мг/кг (доза залежить від чутливості експериментальних тварин), бікукулін – 20 мг/кг. Загальний період спостереження за тваринами становив 1 год після ін’єкції аналізатора з реєстрацією основного показника – перших генералізованих клонічних судом з втратою рефлексу перевертання [248, 260]. Наступна оцінка стану тварин проводилася через 24 год.

У дослідних групах вказані аналізатори вводили через 60 хв після введення протиепілептичних препаратів (ПЕП), за винятком тіосемікарбазиду.

Блокатор синтезу ГАМК – тіосемікарбазид (20 мг/кг) використовували для зниження активності ГАМК-ергічної системи. Досліджувані ПЕП вводили одночасно з аналізатором, оскільки судоми виникали через 60-80 хв після введення конвульсанта. Враховували відсоток тварин з клонічними, тонічними судомами та летальність. Загальний термін спостереження за тваринами тривав 2 год.

Амінокислота гліцин – головний гальмівний нейротрансмітер у вертебральній ЦНС. Інгібуюча дія гліцину блокується алкалоїдом стрихніном, що викликає активацію рухових нейронів та призводить до підвищеної збудливості і судом.

При введенні мишам стрихніну (1,5 мг/кг) реєстрували симптом Штраубе та клоніко-тонічні судоми.

Глутаматергічна система підвищує збудливість центральної нервової системи. Саме тому агоніст глутаматних рецепторів каїнова кислота (30 мг/кг) викликає розвиток судомних пароксизмів.

Для дослідження участі серотонінергічної системи у протисудомній активності антиконвульсантів застосовували резерпінову пробу [261]. Дію резерпіну (15 мг/кг) оцінювали за наступними клінічними проявами:

1) своєрідною позою «горб» з вигнутою догори спиною;

2) пілоерекцією.

**2.4 Дослідження толерантності сполук**

Дослідження розвитку терапевтичної резистентності до основних протиепілептичних препаратів: фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, ламотриджину, топірамату проводили на білих мишах [28, 254]. Тварини були поділені на групи. Контрольним мишам в/ч вводили фізіологічний розчин, що дорівнював за кількістю об’єму, введеному піддослідним тваринам. Піддослідним тваринам вводили в/ч досліджуваний препарат протягом 7-14 та 21 діб 1 раз на добу в дозі 10% від ЛД50. Тестування проводили на 3-ю, 5-у, 7-у та 8-у добу для фенобарбіталу, для решти антиконвульсантів – на 3-ю, 5-у, 7-у, 8-у, 10-у, 12-у, 15-у добу за допомогою різних хемоконвульсантів та МЕШ. В результаті було встановлено, що через 7 діб (фенобарбітал) та 14 діб (решта ПЕП) щоденного введення антиконвульсантів спостерігалася редукція їх антикоразолової дії, тобто формувалася толерантність до протисудомного впливу препаратів.

Дослідження протисудомної активності фенобарбіталу (20 мг/кг) проводили за допомогою коразолу (100 мг/кг), тіосемікарбазиду (20 мг/кг) та МЕШ. На введення карбамазепіну в дозі 125 мг/кг тестування проводили за допомогою аналізаторів – тіосемікарбазиду в дозі 20 мг/кг та коразолу в дозі 100 мг/кг, а також МЕШ. На введення вальпроату натрію в дозі 155 мг/кг аналізатором тестування був коразол (100 мг/кг). Тіосемікарбазид, як аналізатор в дозі 20 мг/кг, в/ч, використовували для дослідження антиконвульсивної активності топірамату (300 мг/кг). Протисудомну дію ламотриджину (30 мг/кг) досліджували за допомогою МЕШ [109].

**2.5 Вивчення перехресної толерантності між протисудомними засобами**

Дослідження перехресної толерантності до протисудомної дії фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, ламотриджину, топірамату проводили на білих мишах при застосуванні аналізаторів коразолу, тіосемікарбазиду, а також МЕШ [254].

Феномен перехресної толерантності реєструвався в тому випадку, коли протисудомний ефект препарату не відтворювався при його введенні на фоні толерантності до іншого антиконвульсанта. Критерієм оцінки появи перехресної толерантності на препарат вважали відсутність захисту тварини від нападу клонічних, тонічних судом та летальності.

Розвиток перехресної толерантності до топірамату вивчали у тварин, толерантних до фенобарбіталу та карбамазепіну, на моделі тіосемікарбазидних судом; до карбамазепіну – у тварин, толерантних до фенобарбіталу та топірамату, на моделях коразолових та тіосемікарбазидних судом; до вальпроату натрію – у тварин, толерантних до фенобарбіталу, на моделі коразолових судом; до ламотриджину та карбамазепіну – у тварин, толерантних до фенобарбіталу, на моделі електроіндукованих судом (МЕШ).

Фармакокінетичні механізми розвитку толерантності досліджувалися за показниками зміни рівня досліджуваних антиконвульсантів у крові та мозку толерантних тварин і функціонуванню системи цитохрома Р-450.

**2.6 Кількісне визначення антиконвульсантів у сироватці крові та тканинах мозку з використанням методу ВЕРХ**

Для проведення хроматографічних досліджень були використані наступні субстанції та реактиви:

1. Карбамазепін (субстанція виробництва «Jubilant Organosys Limited»).

2. Валдісовал – суміш кислоти вальпроєвої та вальпроату натрію у молярному співвідношенні 1 : 2 (субстанція виробництва «Ketwijk Chemie bv» Нідерланди).

3. Ламотриджин (субстанція виробництва «Chemagis ltd»).

4. Топірамат (субстанція виробництва «Alkaloida chemical»).

5. Фенобарбітал (субстанція виробництва ТОВ «Харківське фармацевтичне підприємство «Здоров’я народу»).

6. Метанол для HPLC, 99,9% («Sigma», США).

7. Мурашина кислота, 99,9% («Sigma», США).

8. Ацетонітрил для HPLC, 99,9% («Sigma», США).

9. Ізопропіловий спирт для HPLC, 99,9% («Sigma», США).

Деіонізована вода приготовлена за допомогою системи « Milli-Q», США.

Забір матеріалу (кров і мозок) проводився через 1 год після введення антиконвульсантів у щурів, які знаходилися під ефірним наркозом. Експозиція в 1 год була вибрана у зв’язку з тим, що у цей строк після введення препаратів спостерігається пік протисудомної активності вказаних препаратів в експерименті на щурах при моделюванні хемоконвульсантних судом (коразол, 100 мг/кг, в/ч).

Тому можна припустити, що саме в цей термін формується оптимальний розподіл кількості антиконвульсантів (кров/мозок) для прояву їх протисудомної активності.

Кожна серія дослідів включала дві групи тварин:

1 – нетолерантні тварини, яким одноразово вводили антиконвульсант,

2 – тварини, у яких попередньо формувалася толерантність до досліджуваного антиконвульсанта.

Відбирали головний мозок та кров для приготування біопроб з метою хроматографування. Зразки крові після забору центрифугували для відділення сироватки (центрифуга „ОПН-8”). Тканину головного мозку гомогенізували (гомогенізатор скло/скло). Витяг активної субстанції з сироватки (головного мозку) здійснювали наступним чином: в пробірку типу «епендорф» вносили 0,8 мл сироватки крові (0,5-1 г головного мозку), додавали 2 мл метанолу. Суміш перемішували, ставили в ультразвукову баню (Transsonic 460/H Elma) на 5 хв при температурі 55 ºС для повного осадження білків, охолоджували до кімнатної температури, потім центрифугували (15 хв, 8 тис. об/хв). Відділяли прозорий розчин, заміряли його точний об’єм та переносили у скляну віалу. Потім проводили хроматографування [262].

Концентрацію активної субстанції препаратів визначали методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за допомогою хроматографічної системи Agilent Technologies 1200 LC/MS system (США) з ультрафіолетовим і мас-спектрометричним детектором. Детектування здійснювали одноквадрупольним мас-спектрометром з електроспрей іонізацією [262, 263, 264, 265].

Хроматографічні вимірювання проводили в ізократичному режимі за допомогою двох аналітичних колонок, з’єднаних послідовно, Rapid Resolution HT Cartrige 4,6 x 30 mm, 1,8 μm та Zorbax SB-C18 4,6x50 mm, 1,8 μm.

Валідацію методики хроматографічного визначення антиконвульсантів проводили згідно з міжнародними настановами та національними правилами проведення біоаналітичних досліджень [266, 267, 268, 269, 270].

**2.7 Методика змін барбітуратного сну як показника стану системи цитохрома Р-450**

Для з’ясування участі системи ізоферментів Р-450 у механізмі розвитку толерантності до досліджуваних ПЕП застосовували барбітуратний (гексеналовий) сон. Ідеологія цього підходу заключається в тому, що барбітурати (зокрема, гексенал) метаболізується за участю ферментів системи цитохрому Р-450. Тому зниження або підвищення активності цих ферментів відображається на тривалості сну, що дає можливість стверджувати про індукцію або інгібування Р-450 при дії досліджуваного препарата. Гексенал розчиняли в підігрітому (до 40 ºС) фізіологічному розчині з розрахунку 1 г гексеналу в 10 см3 води (10% розчин).

Мишам контрольної групи вводили фізіологічний розчин хлориду натрію (0,9%), дослідної – антиконвульсанти. Через 30 хв всім тваринам в/ч вводили гексенал у дозі 100 мг/кг. Безпосередньо після ін’єкції тварину переносили до прозорої камери та розпочинали візуальне спостереження за перебігом поведінкових реакцій, тобто фіксували латентний період засинання і тривалість сну. Дані показники реєстрували за боковим положенням, або втратою тваринами рефлексу перевертання (тварини залишаються в незручній позі на спині чи на боці) [260, 271].

**2.8 Методи статистичної обробки отриманих результатів**

Статистична обробка даних наукових досліджень проводилася з використанням програми Statistica 6.0. Математична обробка включала розрахунок середньої арифметичної для групи тварин (М), стандартну помилку середньої (m).

Перед застосуванням статистичних критеріїв проводилася перевірка гіпотези про нормальний закон розподілу випадкових величин за допомогою тесту Шапіро-Уілка та рівності дисперсій (критерій Лівена) [272].

Достовірність різниці середніх значень оцінювалась з використанням t-критерію Ст’юдента. Відмінності вважали статистично достовірними при р<0,05 [273, 274].

**РОЗДІЛ 3**

**РОЗВИТОК ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ПРОТИСУДОМНОЇ ДІЇ**

**АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ ПРИ ЇХ ТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ**

Лікування епілепсії зводиться, головним чином, до призначення антиконвульсантів, прийом яких продовжується роками, а інколи протягом всього життя.

Тривале введення ксенобіотиків, до яких, у тому числі, відносяться і протисудомні препарати, є передумовою можливого розвитку толерантності до їх дії.

Тому виправданим було дослідження особливостей і закономірностей формування толерантності до дії різних протисудомних засобів при їх тривалому введенні, що важливо для визначення тактики і стратегії фармакотерапії епілепсії.

Проведення досліджень в цьому напрямку включало ряд етапів. Спочатку проводилися апробація, верифікація відомих методів експериментальних моделей хемоконвульсантних і електроіндукованих (МЕШ) судомних препаратів. При цьому використовувалися дози і шляхи введення хемоконвульсантів, які відтворюють виражені, стабільні судомні стани у більшості в групі експериментальних тварин (80-100%). Потім визначалися найбільш чутливі моделі до протисудомної дії досліджуваних антиконвульсантів.

Отримані результати склали експериментальну базу для дослідження розвитку толерантності до протисудомної дії протиепілептичних препаратів (ПЕП).

Толерантність оцінювалася як сформована, коли після тривалого, щоденного введення препарату припинялася його протисудомна активність.

**3.1 Валідація експериментальних моделей судомних станів**

Досліди проведені на білих мишах, яким внутрішньочеревно вводили хемоконвульсанти, а саме коразол (пентилентетразол), бікукулін, тіосемікарбазид, каїнову кислоту і стрихнін.

Отримані результати представлені в табл. 3.1.

Коразол, введений в дозі 100 мг/кг, у 100% випадків викликав розвиток клонічних судом, які в 90% переходили в тонічні судоми. На висоті тонічних судом 80% мишей гинули.

Коразолові судоми виникали через 1-1,5 хв після введення хемоконвульсанта. Летальність наступала в перші 3-5 хв після початку судом. Загальний період спостереження за тваринами становив 1 год. Наступна оцінка стану тварин проводилася через 24 год.

Бікукулін в дозі 20 мг/кг викликав появу судом через 5-7 хв після введення. При цьому в 20% спостерігалися клонічні і в 80% тонічні судоми. У 80% випадків судомний період закінчувався летальністю тварин.

Латентний період появи судом при введенні тіосемікарбазиду в дозі 20 мг/кг складав приблизно 1 год, після чого в 100% випадків розвивалися клоніко-тонічні судоми і спостерігалася летальність тварин.

При введенні каїнової кислоти (30 мг/кг) розвивалися клонічні судоми, які не трансформувалися в тонічні, тобто тонічна фаза судомного синдрому не спостерігалася. Судомний клонічний синдром, викликаний каїновою кислотою, в 100% закінчувався загибеллю тварин.

Стрихнін в дозі 1,5 мг/кг в 100% випадків викликав клоніко-тонічні судоми і загибель тварин.

В окремій серії дослідів були визначені параметри електроіндукованих судом (максимальний електрошок, МЕШ). Було встановлено, що струм силою 50 мА у 100% тварин призводив до появи тонічних судом.

Таблиця 3.1

**Дози хемоконвульсантів, що викликають судомні напади у білих мишей**

**при внутрішньочеревному введенні**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Хемоконвульсант | Дози, мг/кг | Кількість тварин  з клонічними судомами | Кількість тварин  з тонічними судомами | Летальність | |
| кількість | % |
| Коразол | 100 | 10/10\* | 9/10 | 8/10 | 80 |
| Бікукулін | 20 | 10/10 | 8/10 | 8/10 | 80 |
| Тіосемікарбазид | 20 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 100 |
| Каїнова кислота | 30 | 8/8 | 0/8 | 8/8 | 100 |
| Стрихнін | 1,5 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 100 |

Примітка: \* – у чисельнику – кількість тварин із зареєстрованим ефектом,

у знаменнику – кількість тварин в експерименті.

Необхідно відзначити, що в епілептології моделі хемоконвульсантних судомних станів екстраполюються як прояв малих клінічних форм епілепсії (petit mal), а електроіндуковані судоми (МЕШ) – як генералізовані судомні напади (grand mal).

У наступній частині роботи експериментальним шляхом визначалися моделі судомних станів, чутливих до терапевтичної дії досліджуваних антиконвульсантів.

**3.2 Вибір експериментальних моделей судомних станів, чутливих до дії досліджуваних антиконвульсантів**

Досліди проведені на білих мишах. Робочі дози антиконвульсантів були вибрані, виходячи з даних літератури і експериментального досвіду нашої лабораторії. Ці дози для фенобарбіталу склали 20 мг/кг, карбамазепіну – 125 мг/кг, вальпроату натрію – 155 мг/кг, топірамату – 300 мг/кг і ламотриджину – 30 мг/кг. Всі протисудомні препарати вводили внутрішньочеревно за 1 год до хемоконвульсантів і МЕШ. Виняток становила серія дослідів, у яких в якості хемоконвульсанта використовувався тіосемікарбазид. В цих дослідах антиконвульсанти вводили разом з тіосемікарбазидом.

Результати дослідів показали, що фенобарбітал проявляє протисудомну активність на всіх моделях хемоконвульсантних судомних нападів і на моделі МЕШ. При цьому найбільша ефективність препарату спостерігається на моделях коразолових судом і МЕШ, оскільки розвиток судом в цих випадках попереджувався в 100% експериментальних тварин (табл. 3.2). Найменша активність реєструвалася при стрихнінових судомах, котрі попереджувалися у 60% тварин.

Протисудомна активність карбамазепіну спостерігалася при всіх використаних моделях судомних станів (табл. 3.3), з більшою ефективністю при МЕШ, коразолових, бікукулінових і тіосемікарбазидних судомах,

Таблиця 3.2

**Протисудомна активність фенобарбіталу**

**в різних експериментальних моделях судомних станів**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Умови досліду | Хемоконвульсанти | | | | | МЕШ |
| Кількість та % наявності судом | | | | |
| Коразол | Бікукулін | Тіосемі-карбазид | Стрихнін | Каїнова кислота |
| Контроль, % | 9/10◊  90% | 8/10  80% | 10/10  100% | 8/8  100% | 10/10  100% | 6/6  100% |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, % | 0/10  0%\* | 2/10  20%\* | 3/10  33%\* | 4/10  40%\* | 3/9  30%\* | 0/6\*  0%\* |

Примітки: 1. ◊ – у чисельнику – кількість тварин з судомним синдромом,

у знаменнику – кількість тварин в досліді;

2. \* – р<0,05 відносно контролю.

Таблиця 3.3

**Протисудомна активність карбамазепіну**

**в різних експериментальних моделях судомних станів**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Умови досліду | Хемоконвульсанти | | | | | МЕШ |
| Кількість та % наявності судом | | | | |
| Коразол | Бікукулін | Тіосемі-карбазид | Стрихнін | Каїнова кислота |
| Контроль, % | 9/10◊  90% | 8/10  80% | 10/10  100% | 8/8  100% | 10/10  100% | 6/6  100% |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, % | 1/10  10%\* | 1/8  12,5%\* | 2/10  20%\* | 3/10  33%\* | 4/10  40%\* | 0/6\*  0%\* |

Примітка: 1. ◊ – у чисельнику – кількість тварин з судомним синдромом,

у знаменнику – кількість тварин в досліді;

2. \* – р<0,05 відносно контролю.

відповідно в 100%, 90%, 87,5% і 80%, тоді як при каїнатних судомах – у 60%.

Вальпроат натрію в 100% попереджував коразолові судоми і у 70% тіосемікарбазидні судоми. Щодо судомних нападів, викликаних стрихніном, каїновою кислотою і бікукуліном, вальпроат натрію виявився неефективним (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Протисудомна активність вальпроату натрію**

**в різних експериментальних моделях судомних станів**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Умови  досліду | Хемоконвульсанти | | | | |
| Кількість та % наявності судом | | | | |
| Коразол | Бікукулін | Тіосемі-карбазид | Стрихнін | Каїнова кислота |
| Контроль, % | 9/10◊  90% | 8/10  80% | 10/10  100% | 8/8  100% | 10/10  100% |
| Вальпроат  натрію, 155 мг/кг, % | 0/10  0%\* | 6/8  75%\* | 3/10  30%\* | 9/10  90%\* | 8/8  100%\* |

Примітка: 1. ◊ – у чисельнику – кількість тварин з судомним синдромом,

у знаменнику – кількість тварин в досліді;

2. \* – р<0,05 відносно контролю.

Топірамат ефективно (в 100%) попереджував тіосемікарбазидні і у 80% коразолові судоми, але не попереджував розвиток стрихнінових, каїнатних і бікукулінових судомних станів (табл. 3.5).

У зв’язку з тим, що згідно з даними літератури, ламотриджин малоефективний на моделях хемоконвульсантних судом, ми вивчали його протисудомну активність в моделі МЕШ. При цьому було встановлено, що ламотриджин в дозі 30 мг/кг, введений внутрішньочеревно за 1 год до МЕШ, у 8 тварин з 10, тобто у 80% попереджує розвиток тонічних судом.

Таблиця 3.5

**Протисудомна активність топірамату**

**в різних експериментальних моделях судомних станів**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Умови досліду | Хемоконвульсанти | | | | |
| Кількість та % наявності судом | | | | |
| Коразол | Бікукулін | Тіосемі-карбазид | Стрихнін | Каїнова кислота |
| Контроль, % | 9/10◊  90% | 8/10  80% | 10/10  100% | 8/8  100% | 10/10  100% |
| Топірамат,  300 мг/кг, % | 2/10  20%\* | 5/8  62,5%\* | 0/10  0%\* | 8/8  100%\* | 6/8  75%\* |

Примітка: 1. ◊ – у чисельнику – кількість тварин з судомним синдромом,

у знаменнику – кількість тварин в досліді;

2. \* – р<0,05 відносно контролю.

Отримані результати показують, що фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію і топірамат проявляють найбільшу протисудомну активність на моделях коразолових і тіосемікарбазидних судом, а ламотриджин – на моделі МЕШ. На моделі МЕШ активний також фенобарбітал і карбамазепін. У зв’язку з цим для подальшого дослідження толерантності до протисудомної дії антиконвульсантів були вибрані коразолові, тіосемікарбазидні і електроіндуковані (МЕШ) судомні стани.

На цих же моделях були проведена апробація досліджуваних антиконвульсантів в дослідах на білих щурах при внутрішньочеревному введенні протисудомних препаратів і хемоконвульсантів в дозах, які проявляли ефективність на мишах.

МЕШ на щурах також моделювали з тими ж параметрами струму, що й в дослідах на мишах, тобто 50 мА. Тонічні судоми при цьому розвивалися у 100% випадків.

Проведені досліди показали репрезентативність такого підходу, оскільки в даному випадку не було виявлено видових відмінностей в дії як хемоконвульсантів, так і антиконвульсантів (табл. 3.6).

**3.3 Толерантність до протисудомної дії антиконвульсантів**

Вивчення розвитку толерантності до дії антиконвульсантів (фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію, топірамат і ламотриджин) проводилося з використанням хемоконвульсантних моделей судомних станів (коразол, тіосемікарбазид) і електроіндукованих судом (МЕШ). Досліди проведені на білих мишах. Досліджувані препарати вводили внутрішньочеревно в наступних дозах: фенобарбітал, 20 мг/кг; карбамазепін, 125 мг/кг; вальпроат натрію, 155 мг/кг; топірамат, 300 мг/кг; ламотриджин, 30 мг/кг. При використанні коразолової моделі судом і МЕШ антиконвульсанти вводилися за 1 год до моделювання судомних станів, у випадку тіосемікарбазидних судом – одночасно з цим хемоконвульсантом.

Антиконвульсанти вводилися щоденно, один раз на добу. Толерантність оцінювалася як сформована, коли в певний термін (день чергового введення) припинявся прояв протисудомної активності досліджуваного антиконвульсанта у більшості тварин у групі (50% і більше).

**3.3.1 Фенобарбітал**

Розвиток толерантності до протисудомної дії фенобарбіталу в методиці коразолових судом реєструвався на 7 добу щоденного введення препарату в дозі 20 мг/кг, що проявлялося відсутністю протисудомного ефекту у 100% досліджуваних тварин в дослідній групі (табл. 3.7). З таблиці 3.7 видно, що

Таблиця 3.6

**Протисудомна активність антиконвульсантів в дослідах на білих щурах**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Умови досліду | Моделі судомних станів | | |
| Кількість та % наявності судом у групі тварин | | |
| Коразолові судоми  (100 мг/кг) | Тіосемікарбазидні судоми  (20 мг/кг) | МЕШ |
| Контроль | 9/10◊  (90%) | 10/10 (100%) | 8/8 (100%) |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг | 0/10 (0%)\* | 2/10 (20%)\* | 0/6 (0%)\* |
| Карбамазепін, 125 мг/кг | 2/10 (20%)\* | 3/10 (33%)\* | 0/7 (0%)\* |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг | 0/10 (0%)\* | 4/10 (40%)\* | - |
| Топірамат, 300 мг/кг | 2/8 (25%)\* | 0/8 (0%)\* | - |
| Ламотриджин, 30 мг/кг | - | - | 0/10 (0%)\* |

Примітка: ◊ – у чисельнику – кількість тварин з судомним синдромом, у знаменнику – кількість тварин в досліді;

\* – р<0,05 відносно контролю.

одноразове введення фенобарбіталу повністю попереджує розвиток коразолових судом у 100% тварин. Проте після щоденного введення препарату протягом 7 діб у 100% випадків спостерігаються судоми, викликані дією коразолу. Отримані результати дають підставу для заключення про формування толерантності до протисудомної дії фенобарбіталу при тривалому введенні даного антиконвульсанта.

Таблиця 3.7

**Толерантність до дії фенобарбіталу**

**за методикою коразолових судом**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 9/10 | 90 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч  одноразово +  коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль II) | 0/10 | 0\* |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч  протягом 7 днів +  коразол, 100 мг/кг, в/ч | 8/8 | 100◊ |

Примітки: \* – р<0,05 відносно контролю I;

◊ –р<0,05 відносно контролю II.

Фенобарбітал в дозі 20 мг/кг попереджує розвиток тіосемікарбазидних судом в 70% випадків. При щоденному введенні фенобарбіталу протягом 7 діб протисудомний ефект препарату не відтворюється у 80% тварин (табл. 3.8), що свідчить про розвиток толерантності до даного препарату.

Таким чином, в методиках хемоконвульсантних судомних станів (коразол, тіосемікарбазид) толерантність до протисудомної дії фенобарбіталу формується досить швидко – протягом 7-денного введення цього протисудомного засобу.

Таблиця 3.8

**Толерантність до дії фенобарбіталу**

**за методикою тіосемікарбазидних судом**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Тіосемікарбазид, 20 мг/кг,  в/ч (контроль I) | 10/10 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг,  в/ч, одноразово +  тіосемікарбазид, 100 мг/кг,  в/ч (контроль II) | 3/10 | 30\* |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг,  в/ч, протягом 7 днів +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч | 8/10 | 80◊ |

Примітки: \* – р<0,05 відносно контролю I;

◊ –р<0,05 відносно контролю II.

Розвиток толерантності до протисудомної дії фенобарбіталу реєструється і при використанні методу МЕШ (табл. 3.9). Проте в даному випадку прослідковуються інші закономірності формування толерантності. Семиденне введення фенобарбіталу в дозі 20 мг/кг не призводить до зниження протисудомної активності фенобарбіталу. При введенні препарату протягом 14 днів тільки в 25% тварин не спостерігається протисудомного ефекту, що статистично не відрізняється від контролю. При введенні препарату протягом 21 дня в 100% випадків реєструється ефект толерантності. Часова динаміка формування толерантності до дії фенобарбіталу в методиці МЕШ показана на рис. 1.

Таблиця 3.9

**Толерантність до дії фенобарбіталу за методикою МЕШ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| МЕШ  (контроль I) | 10/10 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг,  в/ч, одноразово + МЕШ  (контроль II) | 0/10 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг,  в/ч, протягом 7 днів + МЕШ | 0/10 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг,  в/ч, протягом 14 днів + МЕШ | 2/8 | 25\* |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг,  в/ч, протягом 21 дня + МЕШ | 8/8 | 100 |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю I.

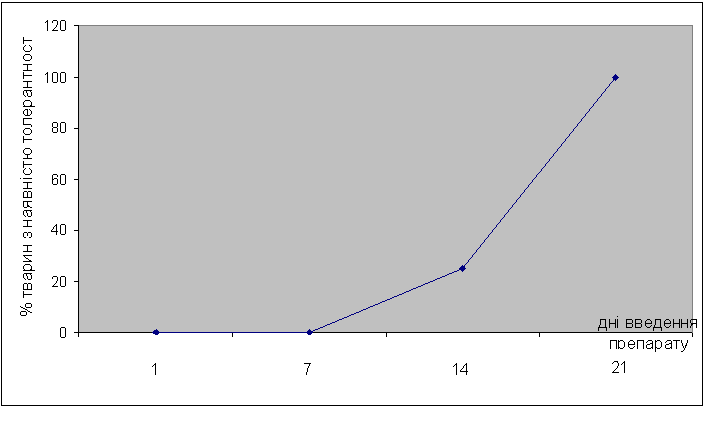


Рис. 1. Динаміка розвитку толерантності до протисудомної дії фенобарбіталу за методикою МЕШ (n=8-10)

Примітка: \* – р<0,05 відносно першого дня введення фенобарбіталу.

**3.3.2 Карбамазепін**

Карбамазепін в дозі 125 мг/кг, введений білим мишам в/ч в 100% попереджує розвиток коразолових і в 80% – тіосемікарбазидних судом. Протисудомна активність препарату в методиці коразолових судом зберігається після щоденного введення протягом 7 діб. Введення препарату протягом 14 діб призводить до припинення протисудомного ефекту, що свідчить про формування толерантності до дії карбамазепіну (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

**Толерантність до дії карбамазепіну**

**за методикою коразолових судом**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин  з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 9/10 | 90 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  одноразово + коразол,  100 мг/кг, в/ч (контроль II) | 0/8 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  протягом 7 днів +  коразол, 100 мг/кг | 0/8 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  протягом 14 днів +  коразол, 100 мг/кг | 8/10 | 80 |

Так як і в моделі коразолових судом, протисудомна активність карбамазепіну зберігається в моделі тіосемікарбазидних судом при введенні антиконвульсанта протягом 7 днів. Проте 14-денне введення карбамазепіну призводить до припинення його протисудомної дії, що пов’язано з формуванням толерантності до протисудомного впливу препарату (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

**Толерантність до дії карбамазепіну**

**за методикою тіосемікарбазидних судом**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 10/10 | 100 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  одноразово +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч  (контроль II) | 2/10 | 20\* |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  протягом 7 днів +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг | 1/8 | 12,5\* |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  протягом 14 днів +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг | 10/10 | 100 |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю I.

Поряд з цим при використанні експериментальної моделі МЕШ протисудомна активність карбамазепіну зберігається не тільки при 7-денному, але і 14-денному введенні препарату (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Толерантність до дії карбамазепіну за методикою МЕШ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| МЕШ (контроль I) | 6/6 | 100 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  одноразово + МЕШ  (контроль II) | 0/8 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  протягом 7 днів + МЕШ | 0/10 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  протягом 14 днів + МЕШ | 0/8 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  протягом 21 дня + МЕШ | 7/8 | 87,5 |

Повне попередження протисудомного ефекту спостерігається після 21-денного введення препарату, що свідчить про розвиток толерантності до дії карбамазепіну (табл. 3.12).

**3.3.3 Вальпроат натрію**

Одноразове введення вальпроату натрію в дозі 155 мг/кг, в/ч, у 90% попереджує розвиток коразолових судом. При введенні препарату в цій же дозі протягом 14 днів протисудомна дія не спостерігається у 75 % тварин, а після 21-денного введення протисудомний ефект не відтворюється в усій групі експериментальних тварин, тобто в 100% випадків (табл. 3.13). Ці дані показують, що при тривалому введенні вальпроату натрію формується толерантність до його протисудомної дії.

Таблиця 3.13

**Толерантність до протисудомної дії вальпроату натрію**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 9/10 | 90 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч, одноразово + коразол, 100 мг/кг, в/ч (контроль II) | 0/10 | 0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч, протягом 14 днів +  коразол, 100 мг/кг, в/ч | 6/8 | 75◊ |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч, протягом 21 дня +  коразол, 100 мг/кг | 8/8 | 100◊ |

Примітка:  ◊ –р<0,05 відносно контролю II.

**3.3.4 Топірамат**

В методиці тіосемікарбазидних судом топірамат в дозі 300 мг/кг, в/ч, в усій групі тварин, тобто в 100% проявляє протисудомну дію. Цей ефект в повній мірі зберігається після 7-денного введення препарату. Проте введення топірамату протягом 14 днів призводить до розвитку толерантності, тобто протисудомний вплив препарату не відтворюється у 100% тварин (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

**Толерантність до протисудомної дії топірамату**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 10/10 | 100 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч,  одноразово + тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч (контроль II) | 0/10 | 0 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч,  протягом 7 днів +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг | 0/8 | 0 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч,  протягом 14 днів +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг | 8/8 | 100 |

**3.3.5 Ламотриджин**

На відміну від фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію і топірамату, ламотриджин проявляє меншу активність при дослідженні на хемоконвульсантних моделях судомних станів. Особливо виражено це проявляється в методиці коразолових судом, що повністю узгоджується в цьому плані з даними літератури [109].

В той же час ламотриджин досить ефективний в методиці електроіндукованих судом. У зв’язку з цим дослідження толерантності до протисудомної дії ламотриджину проведені з використанням методу МЕШ.

Проведені досліди показали, що ламотриджин в дозі 30 мг/кг, в/ч, у 80% випадків попереджує розвиток тонічних судом в методиці МЕШ (табл. 3.15).

При введенні ламотриджину в тій же дозі протягом 7 днів протисудомна активність препарату збільшувалася, так як розвиток судом попереджувався в усіх тварин в експериментальній групі, тобто в 100%, що, можливо, свідчить про кумулятивний ефект препарату. Проте, починаючи з 14-го дня введення препарату, спостерігається зниження його протисудомної дії аж до повного припинення після 21 дня введення (табл. 3.15 і рис. 2), що свідчить про розвиток толерантності до цього протисудомного засобу.

Таблиця 3.15

**Толерантність до протисудомної дії ламотриджину**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| МЕШ (контроль I) | 6/6 | 100 |
| Ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч,  одноразово + МЕШ  (контроль II) | 2/10 | 20\* |
| Ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч,  протягом 7 днів + МЕШ | 0/8 | 0 |
| Ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч,  протягом 14 днів + МЕШ | 5/8 | 62,5◊ |
| Ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч,  протягом 21 дня + МЕШ | 8/8 | 100◊ |

Примітки: \* – р<0,05 відносно контролю I;

◊ –р<0,05 відносно контролю II.

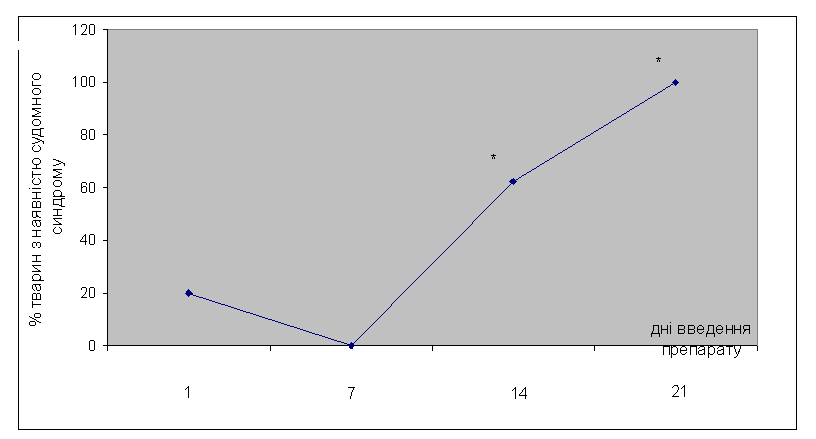


Рис. 2. Динаміка розвитку толерантності до протисудомної дії ламотриджину за методикою МЕШ (n=6-10)

Примітка: \* – р<0,05 відносно першого (одноразового) введення препарату.

Таким чином, проведені дослідження показали, що при тривалому введенні антиконвульсантів розвивається толерантність до їх протисудомної дії. При цьому встановлені певні закономірності формування толерантності, пов’язані з двома факторами, які впливають на швидкість (темп) розвитку терапевтичної резистентності до дії протисудомних засобів. До цих факторів відносяться, в першу чергу, індивідуальний профіль і можливий механізм дії кожного з вивчених антиконвульсантів, а також експериментальна модель судомних станів (хемоконвульсантна і електроіндукована), використані для дослідження толерантності.

У моделях хемоконвульсантного судомного синдрому (коразолові і тіосемікарбазидні судоми) толерантність до фенобарбіталу формується в два рази швидше (на 7-у добу щоденного введення препарату), ніж до вальпроату натрію, карбамазепіну і топірамату, толерантність до дії яких реєструється на 14-у добу їх введення.

Ці дані дають підставу прогнозувати, що терапевтична резистентність при лікуванні епілепсії фенобарбіталом може наступити значно раніше, ніж у випадку застосування вальпроату натрію, карбамазепіну чи ламотриджину.

Крім того, на прикладі фенобарбіталу і карбамазепіну показано, що при використанні хемоконвульсантної моделі судомних станів толерантність до протисудомної дії цих препаратів проявляється в 2-3 рази швидше, ніж у електроіндукованій моделі судом (МЕШ). У цьому випадку толерантність до дії фенобарбіталу та карбамазепіну формується при 21-денному введенні препаратів. Також закономірність розвитку толерантності з використанням моделі МЕШ спостерігається при дослідженні ламотриджину.

Отже, якщо врахувати, що хемоконвульсантні моделі судомних станів асоціюються з екстраполяцією на малі клінічні форми епілепсії, а електроіндуковані – з генералізованими судомними нападами, можна зробити висновок про те, що розвиток терапевтичної резистентності до протисудомної дії антиконвульсантів формується набагато швидше при лікуванні petit mal, ніж grand mal.

**Висновки до розділу 3**

1. Тривале введення антиконвульсантів (фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату і ламотриджину) призводить до розвитку толерантності до їх протисудомної дії.
2. На моделях хемоконвульсантних судомних станів толерантність до дії фенобарбіталу наступає в 2-3 рази швидше відносно вальпроату натрію, карбамазепіну і топірамату.
3. При дослідженні хемоконвульсантних моделей судом розвиток толерантності до дії антиконвульсантів реєструється в 2-3 рази швидше, ніж при електроіндукованій моделі судомних станів.

Публікації в наукових виданнях за результатами експериментальних досліджень, наведеними в даному розділі дисертаційної роботи:

1. Мовчан О.Д. Фармакорезистентна епілепсія / Л.О. Громов, К.О. Черноштан, О.Д. Мовчан, Л.Г. Гончар-Чердаклі // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. – 2013. – № 1 (23). – С. 68-76.

2. Мовчан Е.Д. Толерантность к действию антиэпилептических средств при их длительном применении / К.А. Черноштан, Е.Д. Мовчан, А.П. Ворожбыт [и др.] // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення та апробації лікарських засобів: ХХVII науково-практична конференція з міжнародною участю, 4 лютого 2010 р.: тези доповідей. – Харків, 2010. – С. 146-147.

3. Мовчан О.Д. Дослідження розвитку толерантності до дії антиконвульсантів / О.Д. Мовчан // Актуальні питання клінічної і експериментальної фармакології: наукова конференція, присвячена 170-річчю кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, 25-26 травня 2011 р.: тези доповідей. – Український науково-медичний молодіжний журнал, 2011. – № 4 (спеціальний випуск). – С. 70.

**РОЗДІЛ 4**

**ПЕРЕХРЕСНА ТОЛЕРАНТНІСТЬ**

**МІЖ ПРОТИСУДОМНИМИ ПРЕПАРАТАМИ**

**ПРИ ЇХ ТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ**

З метою подолання терапевтичної резистентності в клінічній практиці широко використовується заміна одного препарату на інший в межах однієї фармакодинамічної групи. Але при цьому не враховується можливість формування перехресної толерантності, коли на фоні толерантності до якого-небудь препарату не відтворюється фармакологічний ефект іншого препарата аналогічної терапевтичної групи.

Систематичне дослідження в цьому напрямку має очевидну практичну значимість. Поряд з цим дослідження подібного плану можуть сприяти повнішому розумінню механізмів дії антиконвульсантів, особливо в тих випадках, коли мова йде про перехресну толерантність препаратів з різною хімічною структурою, але однаковою фармакологічною активністю.

Результати досліджень, наведені в попередньому розділі роботи, свідчать про те, що при тривалому введенні антиконвульсантів (фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію, топірамат, ламотриджин) формується толерантність до їх протисудомної дії. Причому темп формування і прояв ефекту толерантності залежать від експериментальної моделі судомних станів (хемоконвульсантна або електроіндукована) і в певній мірі від хімічної будови досліджуваного протисудомного препарату.

Тому було виправданим вивчення перехресної толерантності між досліджуваними антиконвульсантами на різних моделях судомних нападів.

Хід дослідження полягав у тому, що спочатку формувалася толерантність до даного препарату і на фоні сформованої толерантності оцінювалася протисудомна активність іншого антиконвульсанта. Якщо у цьому разі протисудомна дія не відтворювалася, то можна було констатувати наявність перехресної толерантності між досліджуваними антиконвульсантами.

**4.1 Фенобарбітал**

Перехресна толерантність до протисудомної дії антиконвульсантів вивчалася на експериментальних моделях судомних станів з використанням коразолу і тіосемікарбазиду, а також на моделі МЕШ.

Досліди проведені на білих мишах. Фенобарбітал вводився в дозі 20 мг/кг внутрішньочеревно, щоденно, протягом 7 днів. На 8-й день одній групі тварин за 1 год до коразолу (100 мг/кг, в/ч) вводився вальпроат натрію (155 мг/кг, в/ч), іншій групі – карбамазепін (125 мг/кг, в/ч).

Результати наведені в таблицях 4.1 і 4.2. З таблиці 4.1 видно, що вальпроат натрію (155 мг/кг) повністю попереджує судомну дію коразолу. Протисудомний ефект вальпроату натрію, введеного в тій же дозі тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу, не відтворюється. Отже, формується перехресна толерантність між фенобарбіталом і вальпроатом натрію.

Таблиця 4.1

**Протисудомна активність вальпроату натрію у тварин,**

**толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг (контроль), n=6 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=6 | 0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч, + коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=6 | 0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до фенобарбіталу + коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

Карбамазепін у 90% випадків попереджує розвиток коразолових судом. Проте цей препарат, введений на фоні толерантності до фенобарбіталу, не проявляє протисудомної активності, що свідчить про перехресну толерантність між фенобарбіталом і карбамазепіном (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Протисудомна активність карбамазепіну у тварин,**

**толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг (контроль), n=6 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг +  коразол, 100 мг/кг, n=6 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг +  коразол, 100 мг/кг, n=10 | 10\* |
| Карбамазепін, 125 мг/кг на фоні толерантності до фенобарбіталу +  коразол, 100 мг/кг, n=10 | 100 |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю.

Перехресна толерантність серед антиконвульсантів реєструється і на експериментальній моделі судомних станів, викликаних тіосемікарбазидом.

Досліди проведені на білих мишах. Тіосемікарбазид вводився в/ч, в дозі 20 мг/кг. Враховуючи те, що тіосемікарбазидні судоми розвиваються через 1 год після введення хемоконвульсанта, антиконвульсанти вводилися безпосередньо перед тіосемікарбазидом. В даній серії дослідів визначалася протисудомна ефективність топірамату (300 мг/кг, в/ч), введеного на фоні толерантності до фенобарбіталу, тобто на 8-йдень після попереднього щоденного введення фенобарбіталу протягом 7 днів. Результати дослідів показали, що топірамат в дозі 300 мг/кг повністю попереджує розвиток тіосемікарбазидних судом. Разом з тим, топірамат у вказаній дозі, введений тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу, не проявляє протисудомного впливу (табл. 4.3). Ці дані дають можливість зробити висновок про наявність перехресної толерантності між фенобарбіталом і топіраматом.

Таблиця 4.3

**Протисудомна активність топірамату у тварин,**

**толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Тіосемікарбазид, 20 мг/кг  (контроль), n=10 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, n=10 | 30\* |
| Топірамат, 300 мг/кг +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, n=10 | 0 |
| Топірамат, 300 мг/кг на фоні толерантності до фенобарбіталу +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, n=8 | 100 |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю.

Таким чином, на моделях хемоконвульсантних (коразол, тіосемікарбазид) судомних станів встановлено, що на фоні сформованої толерантності до дії фенобарбіталу, не спостерігається протисудомний ефект вальпроату натрію, карбамазепіну і топірамату.

Вище зазначалося, що хемоконвульсантні судоми асоціюються з petit mal, а електроіндуковані – з генералізованими судомними нападами. Тому було виправданим вивчення можливої перехресної толерантності між хемоконвульсантами на моделі МЕШ.

Досліди проведені на білих мишах, у яких формувалася толерантність до протисудомної дії фенобарбіталу. З цією метою тваринам щоденно протягом 21 дня внутрішньочеревно вводився фенобарбітал в дозі 20 мг/кг. На 22-й день замість фенобарбіталу за 1 год до тестування в методиці МЕШ вводився карбамазепін (125 мг/кг, в/ч) або ламотриджин (30 мг/кг, в/ч).

Результати наведені в таблицях 4.4 і 4.5.

З даних таблиці 4.4 видно, що в методиці електроіндукованих судом карбамазепін, введений тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу, в 100% випадків попереджує розвиток тонічних судом. Отримані результати свідчать про те, що в моделі електроіндукованих судом (МЕШ) не спостерігається перехресної толерантності між фенобарбіталом і карбамазепіном.

Таблиця 4.4

**Протисудомна активність карбамазепіну у тварин,**

**толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю  тонічних судом, % |
| Максимальний електрошок (МЕШ)  (контроль), n=8 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  МЕШ, n=8 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  МЕШ, n=8 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до фенобарбіталу, n=10 | 0 |

Перехресна толерантність в моделі МЕШ не спостерігається також між фенобарбіталом і ламотриджином. При введенні ламотриджину в дозі 30 мг/кг нетолерантним тваринам протисудомний ефект в методиці МЕШ спостерігався в 75% випадків. Ця ж доза ламотриджину, введена тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу, в 100% попереджувала розвиток електроіндукованих тонічних судом, що, з однієї сторони, свідчить про відсутність перехресної толерантності, а з іншої, показує, що тривале введення фенобарбіталу, незважаючи на розвиток толерантності до цього препарату, потенціює протисудомну активність ламотриджину (табл. 4.5).

Отже, на фоні сформованої терапевтичної резистентності при лікуванні фенобарбіталом епілепсії типу grand mal можна очікувати фармакотерапевтичну ефективність при заміні фенобарбіталу на карбамазепін або ламотриджин.

Таблиця 4.5

**Протисудомна активність ламотриджину у тварин,**

**толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю  тонічних судом, % |
| Максимальний електрошок (МЕШ)  (контроль), n=8 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  МЕШ, n=8 | 0 |
| Ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч +  МЕШ, n=8 | 25\* |
| Ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до фенобарбіталу, n=8 | 0 |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю.

**4.2 Карбамазепін**

Вивчення перехресної толерантності до фенобарбіталу і вальпроату натрію у тварин, толерантних до дії карбамазепіну, проводилося на моделі коразолових судом, а до топірамату – на моделі судом, викликаних тіосемікарбазидом.

Досліди проведені на білих мишах, у яких формувалася толерантність до протисудомної дії карбамазепіну шляхом щоденного внутрішньочеревного введення препарату в дозі 125 мг/кг протягом 14 днів. На 15-й день замість карбамазепіну, за 1 год до коразолу (100 мг/кг, в/ч), вводився фенобарбітал (20 мг/кг, в/ч) або вальпроат натрію (155 мг/кг, в/ч) і реєструвалася протисудомна ефективність вказаних препаратів. Результати наведені в таблицях 4.6 і 4.7.

З даних таблиці 4.6 видно, що фенобарбітал у дозі 20 мг/кг, в/ч, у 100% попереджує розвиток коразолових судом. Проте при введенні цієї ж дози фенобарбіталу тваринам, толерантним до дії карбамазепіну, протисудомна активність не реєструється, що свідчить про наявність перехресної толерантності між карбамазепіном і фенобарбіталом.

Таблиця 4.6

**Протисудомна активність фенобарбіталу у тварин,**

**толерантних до дії карбамазепіну**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кідькість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль), n=10 | 100 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до карбамазепіну +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

Феномен перехресної толерантності спостерігається також між карбамазепіном і вальпроатом натрію. Вальпроат натрію (155 мг/кг, в/ч) проявляє високу активність відносно коразолових судом, але протисудомний ефект цього препарату повністю нівелюється в тому випадку, якщо він вводився на фоні толерантності до дії карбамазепіну (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

**Протисудомна активність вальпроату натрію у тварин,**

**толерантних до дії карбамазепіну**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кідькість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль), n=10 | 100 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Вальпроат натрію, 20 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до карбамазепіну + коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

При використанні моделі тіосемікарбазидних судом досліджуваний антиконвульсант вводився не за 1 год, а одночасно з тіосемікарбазидом. У дослідах на цій моделі судомних станів було встановлено, що протисудомна дія топірамату в дозі 300 мг/кг не відтворюється при його введенні тваринам, у яких попередньо була сформована толерантність до карбамазепіну шляхом 14-денного введення препарату в дозі 125 мг/кг (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

**Протисудомна активність топірамату, введеного тваринам,**

**толерантним до дії карбамазепіну**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч  (контроль), n=10 | 100 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, n=10 | 10\* |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до карбамазепіну +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю.

У цих умовах протисудомна активність топірамату повністю нівелюється, що дає можливість зробити висновок про наявність перехресної толерантності між карбамазепіном і топіраматом.

**4.3 Вальпроат натрію**

Перехресна толерантність між вальпроатом натрію та карбамазепіном і топіраматом визначалася на моделі коразолових судом.

Досліди проведені на білих мишах, у яких формувалася толерантність до протисудомної дії вальпроату натрію, яким препарат вводили щоденно, в/ч, в дозі 155 мг/кг, протягом 14 днів. На 15-й день замість вальпроату натрію, за 1 год до коразолу (100 мг/кг, в/ч) внутрішньочеревно вводився карбамазепін (125 мг/кг) або топірамат (300 мг/кг) і оцінювалася протисудомна активність вказаних антиконвульсантів. Результати наведені в таблицях 4.9 і 4.10.

Згідно з даними табл. 4.9 карбамазепін в дозі 125 мг/кг, в/ч у 90% випадків попереджує розвиток коразолових судом, але ця виражена протисудомна активність карбамазепіну не відтворюється при введенні тваринам, толерантним до дії вальпроату натрію. Ці дані вказують на те, що у тварин, толерантних до дії вальпроату натрію, формується перехресна толерантність до протисудомного впливу карбамазепіну.

Таблиця 4.9

**Протисудомна активність карбамазепіну, введеного тваринам,**

**толерантним до дії вальпроату натрію**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль), n=10 | 100 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 10\* |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до вальпроату натрію + коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю.

Перехресна толерантність спостерігається також між вальпроатом натрію і топіраматом, про що свідчать дані табл. 4.10, які вказують на те, що протисудомна активність топірамату не відтворюється, коли цей препарат вводиться тваринам, толерантним до дії вальпроату натрію.

Таблиця 4.10

**Протисудомна активність топірамату, введеного тваринам,**

**толерантним до дії вальпроату натрію**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль), n=10 | 100 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до вальпроату натрію + коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

**4.4 Топірамат**

Можливість формування перехресної толерантності між топіраматом та фенобарбіталом і вальпроатом натрію вивчалася на моделі коразолових судом, а з карбамазепіном – на моделі тіосемікарбазидних судомних станів.

Досліди проведені на білих мишах. Толерантність до дії топірамату формувалася введенням препарату в дозі 300 мг/кг, в/ч, протягом 14 днів. На 15-й день замість топірамату, за 1 год до коразолу (100 мг/кг, в/ч), вводився фенобарбітал (20 мг/кг, в/ч) або вальпроат натрію (155 мг/кг, в/ч).

Результати наведені в таблицях 4.11 і 4.12.

З табл. 4.11 видно, що фенобарбітал в дозі 20 мг/кг, в/ч повністю попереджує розвиток коразолових судом. Проте при введенні цієї ж дози препарату тваринам, толерантним до дії топірамату, протисудомна активність фенобарбіталу не проявляється, тобто спостерігається явище перехресної толерантності між топіраматом і фенобарбіталом.

Таблиця 4.11

**Протисудомна активність фенобарбіталу, введеного тваринам,**

**толерантним до дії топірамату**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль), n=10 | 100 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч на фоні толерантності до топірамату +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

Не відтворюється також протисудомна дія вальпроату натрію (155 мг/кг, в/ч) при його введенні тваринам, толерантним до топірамату,

що свідчить про перехресну толерантність між топіраматом і вальпроатом натрію (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

**Протисудомна активність вальпроату натрію,**

**введеного тваринам, толерантним до дії топірамату**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль), n=10 | 100 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч +  коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч, на фоні толерантності до топірамату + коразол, 100 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

В окремій серії дослідів виявлена перехресна толерантність між топіраматом та карбамазепіном з використанням моделі тіосемікарбазидних

судом. Толерантність до протисудомної дії топірамату формувалася попередньо шляхом щоденного, в/ч введення препарату в дозі 300 мг/кг протягом 14 діб. Дослід проводився на 15-й день, коли замість топірамату вводився карбамазепін (табл. 4.13).

У цих дослідах карбамазепін (125 мг/кг, в/ч) вводився безпосередньо перед тіосемікарбазидом (20 мг/кг, в/ч). Реєстрація протисудомної дії карбамазепіну, введеного на тлі толерантності до топірамату, здійснювалася через 1 год. З даних табл. 4.13 видно, що в даних умовах досліду протисудомна ефективність карбамазепіну не відтворюється.

Таблиця 4.13

**Протисудомна ефективність карбамазепіну,**

**введеного тваринам, толерантним до дії топірамату**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч  (контроль), n=10 | 100 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч, n=10 | 0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч, на фоні толерантності до топірамату + тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч, n=10 | 100 |

Узагальнені результати відносно перехресної толерантності між досліджуваними антиконвульсантами наведені в таблиці 4.14.

З даних табл. 4.14 випливає, що з використанням хемоконвульсантних моделей судом (коразол, тіосемікарбазид) спостерігається феномен прямої і перехресної толерантності між фенобарбіталом, карбамазепіном, вальпроатом натрію і топіраматом. Разом з тим на моделі електроіндукованих судом (МЕШ), на прикладі фенобарбіталу, ламотриджину і карбамазепіну, перехресної толерантності не виявлено.

Отже, враховуючи те, що хемоконвульсантні моделі судомних станів асоціюються з малими клінічними формами епілепсії, а електроіндуковані – з генералізованими нападами, можна прогнозувати, що на фоні сформованої терапевтичної резистентності до дії антиконвульсантів при лікуванні petit mal навряд чи виявиться ефективним підхід заміни одного протисудомного препарату на інший. Поряд з цим терапевтичну резистентність до фенобарбіталу при лікуванні grand mal можна подолати шляхом заміни цього препарату, принаймні, на ламотриджин або карбамазепін.

Таблиця 4.14

**Перехресна толерантність між досліджуваними**

**протисудомними препаратами**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Тварини, толерантні до дії антиконвульсантів: | Експериментальні моделі  судомних станів | Перехресна толерантність  до дії: | Наявність «+»,  відсутність «-»  перехресної толерантності |
| Фенобарбітал | Коразол | Вальпроату натрію | + |
| Коразол | Карбамазепіну | + |
| Тіосемікарбазид | Топірамату | + |
| МЕШ | Ламотриджину | - |
| МЕШ | Карбамазепіну | - |
| Карбамазепін | Коразол | Фенобарбіталу | + |
| Коразол | Вальпроату натрію | + |
| Тіосемікарбазид | Топірамату | + |
| Вальпроат натрію | Коразол | Карбамазепіну | + |
| Коразол | Топірамату | + |
| Коразол | Фенобарбіталу | + |
| Топірамат | Коразол | Вальпроату натрію | + |
| Коразол | Фенобарбіталу | + |
| Тіосемікарбазид | Карбамазепіну | + |

**Висновки до розділу 4**

1. На моделях хемоконвульсантних судомних станів (коразол, тіосемікарбазид) встановлена наявність прямої і перехресної толерантності до протисудомної дії фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію і топірамату.
2. На електроіндукованій моделі судомних нападів (МЕШ) не виявлено перехресної толерантності між фенобарбіталом, ламотриджином і карбамазепіном.

Публікації в наукових виданнях за результатами експериментальних досліджень, наведеними в даному розділі дисертаційної роботи:

1. Мовчан Е.Д. Закономерности развития и механизмы формирования толерантности к действию антиконвульсантов / Л.А. Громов, К.А. Черноштан, Е.Д. Мовчан // Психиатрия, психотерапия и клиническая психология. – 2012. – № 3 (09). – С. 85-94.

2. Мовчан О.Д. Формування толерантності до дії антиконвульсантів / О.Д. Мовчан // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т. 17, № 2. – С. 295-297.

3. Мовчан О.Д. Розвиток терапевтичної резистентності до протисудомних засобів / О.Д. Мовчан // IV Національний з’їзд фармакологів України, 10-12 жовтня 2011 р.: тези доповідей. – Київ, 2011 // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5 (24). – С. 213.

**РОЗДІЛ 5**

**ПРОТИСУДОМНА АКТИВНІСТЬ ПІДВИЩЕНИХ ДОЗ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ, ВВЕДЕНИХ НА ФОНІ**

**СФОРМОВАНОЇ ТОЛЕРАНТНОСТІ**

У тих випадках, коли розвивається терапевтична резистентність до дії протисудомних препаратів, широко використовуваним підходом для подолання толерантності, є підвищення дози антиконвульсанта. У зв’язку з цим, а також отримання даних про швидкий темп розвитку толерантності і особливо наявності феномену перехресної толерантності, виправданою була експериментальна перевірка терапевтичної ефективності такого підходу. В першу чергу це стосується лікування малих клінічних форм епілепсії, експериментальним еквівалентом яких є хемоконвульсантні моделі судомних станів.

З цією метою перевірялася протисудомна активність антиконвульсанта в дозі, яка на 50% перевищує початкову протисудомну дозу, введеного на фоні сформованої толерантності до даного препарату. Полуторна доза була вибрана, виходячи з того, щоб вона не була токсичною чи малоефективною.

Хід досліду полягав у наступному. Спочатку вироблялася толерантність до даного препарату і потім на фоні вже сформованої толерантності вводилася доза антиконвульсанта, яка в 1,5 рази перевищувала початкову протисудомну дозу. Отримані результати порівнювалися з ефективністю антиконвульсанта в початковій дозі, яка вводилася нетолерантним і толерантним тваринам.

В якості експериментальних моделей судомних станів використовувалися коразолові судоми у випадку вивчення фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію і тіосемікарбазидні судоми при використанні топірамату.

**5.1 Фенобарбітал**

Досліди проведені на білих мишах. Для формування толерантності до дії фенобарбіталу препарат вводився в/ч, в дозі 20 мг/кг, щоденно, один раз в день, протягом 7 днів. На 8-й день за 1 год до коразолу (100 мг/кг, в/ч) одній групі тварин вводився фенобарбітал в дозі 20 мг/кг, другій групі – у півтора рази більше – 30 мг/кг і реєструвалася протисудомна антикоразолова ефективність препарату.

Результати наведені в таблиці 5.1. Фенобарбітал в дозі 20 мг/кг повністю попереджує розвиток коразолових судом (контроль II). Проте в цій же дозі препарат не чинить протисудомної дії у випадку, коли він вводився тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу.

Таблиця 5.1

**Протисудомна ефективність фенобарбіталу,**

**введеного толерантним тваринам (М±m; n=7-10)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судом | Кількість тварин з наявністю судом, % | Вираженість судомного синдрому, бали |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 9/10\* | 90 | 4,0±0,0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч + коразол, 100 мг/кг (контроль II) | 0/10 | 0 | 0,0±0,0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч, введений тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу + коразол, 100 мг/кг | 7/7 | 100 | 3,2±0,4◊ |
| Фенобарбітал, 30 мг/кг, в/ч, введений тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу + коразол, 100 мг/кг | 5/7 | 71,4 | 3,0±0,6◊ |

Примітки: \* – у чисельнику – кількість тварин з наявністю судом,

у знаменнику – кількість тварин в досліді;

◊ – р<0,05 відносно контролю II.

При підвищенні дози фенобарбіталу на 50%, тобто до 30 мг/кг, препарат також не проявляє достовірного ефекту при його введенні на фоні сформованої толерантності до фенобарбіталу. У цьому випадку спостерігається лише тенденція до зменшення кількості тварин з наявністю судом і зниження вираженості судомного синдрому.

**5.2 Карбамазепін**

Досліди проведені на білих мишах. З метою формування толерантності до протисудомної дії карбамазепіну препарат водився в дозі 125 мг/кг, в/ч, щоденно, один раз в день, протягом 14 днів. На 15-й день за 1 год до коразолу (100 мг/кг, в/ч) одній групі вводився карбамазепін в дозі 125 мг/кг, другій групі – у півтора рази більше, тобто 187,5 мг/кг. В обох групах оцінювалася антикоразолова дія препарату. Результати дослідів наведені в таблиці 5.2.

Отримані результати показали, що карбамазепін в дозі 125 мг/кг, введений тваринам, толерантним до дії карбамазепіну (на відміну від нетолерантних), не чинить протисудомного впливу. При підвищенні дози препарату в 1,5 рази (до 187,5 мг/кг) також не спостерігалося протисудомного ефекту. Більше того, в цьому випадку реєструється більш висока летальність, оскільки в цій групі загинуло 6 тварин з 7, тобто у 87,5%.

У групі тварин, яким карбамазепін вводився на фоні толерантності в дозі 125 мг/кг, летальність склала 57,1%.

Таким чином, при підвищенні дози карбамазепіну в 1,5 рази (з 125 до 187,5 мг/кг), введеного тваринам, толерантним до дії карбамазепіну, протисудомний вплив препарату не тільки не збільшується, а й спостерігається підвищення токсичності.

Таблиця 5.2

**Протисудомна ефективність карбамазепіну,**

**введеного толерантним тваринам (М±m; n=7-10)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість  тварин з наявністю судом | Кількість тварин з наявністю судом, % | Вираженість судомного синдрому, бали |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч (контроль I) | 9/10\* | 90 | 4,0±0,0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч + коразол, 100 мг/кг  (контроль II) | 0/8 | 0 | 0,0±0,0 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч, введений тваринам, толерантним до дії карбамазепіну + коразол, 100 мг/кг | 7/7 | 100 | 4,0±0,0 |
| Карбамазепін, 187,5 мг/кг, в/ч, введений тваринам, толерантним до дії карбамазепіну + коразол, 100 мг/кг | 7/7 | 100 | 4,0±0,0 |

Примітки: \* –  у чисельнику – кількість тварин з наявністю судом,

у знаменнику – кількість тварин в досліді;

◊ – р< 0,05 відносно контролю II.

**5.3 Вальпроат натрію**

Толерантність до дії вальпроату натрію формувалася шляхом щоденного внутрішньочеревного введення препарату білим мишам в дозі 155 мг/кг, протягом 14-й днів. На 15-й день одній групі толерантних тварин вальпроат натрію вводився в дозі 155 мг/кг, другій – в півтора рази більше (232,5 мг/кг). В цих дослідах вальпроат натрію вводився за 1 год до коразолу.

Результати наведені в таблиці 5.3.

Отримані результати показують, що вальпроат натрію, введений толерантним тваринам, на відміну від нетолерантних тварин, в дозі 155 мг/кг не проявляє протисудомної дії. У цих умовах не спостерігається також протисудомний ефект вальпроату натрію в дозі 232,5 мг/кг, що на 50% перевищує дозу препарату, яка у нетолерантних тварин проявляє виражену протисудомну дію.

Таблиця 5.3

**Протисудомна ефективність вальпроату натрію,**

**введеного толерантним тваринам**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судом | Кількість тварин з наявністю судом, % | Вираженість судомного синдрому, бали |
| Коразол, 100 мг/кг, в/ч (контроль I) | 9/10\* | 90 | 4,0±0,0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч + коразол, 100 мг/кг  (контроль II) | 0/10 | 0 | 0,0±0,0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч, введений тваринам, толерантним до дії вальпроату натрію + коразол, 100 мг/кг | 7/7 | 100 | 4,0±0,0 |
| Вальпроат натрію, 232,5 мг/кг, в/ч, введений тваринам, толерантним до дії вальпроату натрію + коразол, 100 мг/кг | 7/7 | 100 | 4,0±0,0 |

Примітки: \* –  у чисельнику – кількість тварин з наявністю судом,

у знаменнику – кількість тварин в досліді;

◊ – р<0,05 відносно контролю II.

**5.4 Топірамат**

Толерантність до дії топірамату формувалася щоденним, внутрішньочеревним введенням препарату білим мишам в дозі 300 мг/кг, протягом 14 днів. На 15-й день одній групі тварин топірамат вводився в дозі 300 мг/кг, другій групі – 450 мг/кг. В цих дослідах в якості хемоконвульсанта використовувався тіосемікарбазид, який вводився внутрішньочеревно в дозі 20 мг/кг зразу після топірамату. Протисудомний ефект оцінювався через 1 год після введення хемоконвульсанта і антиконвульсанта.

Результати наведені в таблиці 5.4. У нетолерантних тварин топірамат в дозі 300 мг/кг повністю попереджує розвиток тіосемікарбазидних судом. Препарат, введений в цій же дозі толерантним тваринам, хоча і не попереджує розвиток судом, але вираженість судомного синдрому знижується з 4,0±0,0 в нетолерантних тварин до 2,8±0,3 балів в досліді (р<0,05).

Таблиця 5.4

**Протисудомна ефективність топірамату,**

**введеного толерантним тваринам (М±m; n=7-10)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судом | Кількість тварин з наявністю судом, % | Вираженість судомного синдрому, бали |
| Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч (контроль I) | 10/10\* | 100 | 4,0±0,0 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч + тіосемікарбазид, 20 мг/кг  (контроль II) | 0/10 | 0 | 0,0±0,0 |
| Топірамат, 300 мг/кг, в/ч, введений тваринам, толерантним до дії топірамату + тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч | 7/7 | 100 | 2,8±0,3#◊ |
| Топірамат, 450 мг/кг, в/ч, введений тваринам, толерантним до дії топірамату + тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч | 7/7 | 100 | 2,5±0,6#◊ |

Примітки: \* – у чисельнику – кількість тварин з наявністю судом,

у знаменнику – кількість тварин в досліді;

# – р<0,05 відносно контролю I;

◊ – р<0,05 відносно контролю II.

Проте сам факт наявності судом та їх вираженість достовірно відрізняється від групи тварин (контроль II), яким топірамат вводився в дозі 300 мг/кг.

Аналогічна картина спостерігається при підвищенні дози топіратату в півтора рази, тобто до 450 мг/кг. У толерантних тварин ця доза препарату також не попереджувала розвиток тіосемікрбазидних судом, хоча і знижувала їх вираженість з 4,0±0,0 балів в контролі до 2,5±0,6 (р<0,05) у досліді (табл. 5.4).

**Висновки до розділу 5**

1. Підвищення доз фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію і топірамату на 50% відносно ефективних протисудомних доз у нетолерантних тварин не попереджують розвиток судомного синдрому у толерантних тварин.
2. Підвищення доз антиконвульсантів, до яких розвинулася толерантність, з метою подолання терапевтичної резистентності, не сприятиме підвищенню ефективності фармакотерапії малих клінічних форм епілепсії.

Публікації в наукових виданнях за результатами експериментальних досліджень, наведеними в даному розділі дисертаційної роботи:

1. Мовчан О.Д. Протисудомна активність підвищених доз антиконвульсантів на тлі сформованої толерантності / О.Д. Мовчан // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 3 (44). – С. 35-39.

2. Мовчан О.Д. Розвиток толерантності до дії антиконвульсантів / О.Д. Мовчан // Медичні та фармацевтичні науки: аналіз сучасності та прогноз майбутнього: міжнародна науково-практична конференція, 1-2 листопада 2013 р.: матеріали конференції. – Дніпропетровськ, 2013. – С. 72-75.

**РОЗДІЛ 6**

**ФАРМАКОДИНАМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ТОЛЕРАНТНОСТІ**

**ДО ДІЇ ПРОТИСУДОМНИХ ЗАСОБІВ**

Розвиток толерантності до протисудомної дії антиконвульсантів визначає завдання розробки шляхів подолання терапевтичної резистентності в проблемі лікування епілепсії. Теоретичною основою пошуку таких підходів можуть бути дослідження, пов’язані з вивченням механізмів розвитку толерантності до дії протиепілептичних препаратів.

Резистентність, толерантність до дії ксенобіотиків, до яких, в тому числі, відносяться протисудомні засоби, є системною реакцією організму, спрямованої на нейтралізацію впливу чужорідних речовин. Тому в цей процес можуть залучатися різноманітні захисні механізми.

Відомо, що «епілептизація» нейронів мозку при епілептичній хворобі пов’язана зі зниженням гальмівних і превалюванням на цьому фоні активуючих нейромедіаторних систем. До інгібуючих медіаторів центральної нервової системи, в першу чергу, відносяться ГАМК, гліцин, серотонін, до збуджуючих – глутамат. У зв’язку з цим механізми протисудомної дії антиконвульсантів пов’язані, головним чином, з їх впливом на різні ланки синаптичної передачі нервового імпульсу. Тому можна припустити, що одна з альтернативних причин формування толерантності до дії протисудомних препаратів обумовлена змінами у функціонуванні нейромедіаторних систем мозку.

Серед методичних підходів визначення функціонального стану нейромедіаторних систем є фармакологічний аналіз з використанням селективних агоністів і антагоністів різних типів рецепторів.

У контексті даного дослідження були застосовані антагоністи ГАМК-рецепторів (пікротоксин, бікукулін, пентилентетразол (коразол), а також блокатор ГАМК – тіосемікарбазид), агоніст глутаматних рецепторів – каїнова кислота, антагоніст гліцинових рецепторів – стрихнін і лібератор серотоніну з пресинаптичного депо – резерпін. При цьому порівнювався вплив досліджуваних антиконвульсантів на ефекти вказаних аналізаторів у нетолерантних тварин і у тварин, у яких попередньо була сформована толерантність до протисудомних засобів.

**6.1 Фенобарбітал**

Досліди проведені на білих мишах. Фенобарбітал застосовувався в протисудомній дозі, 20 мг/кг, внутрішньочеревно. Для формування толерантності до дії фенобарбіталу препарат вводився щоденно, протягом 7 днів, в дозі 20 мг/кг. На 8-йдень, тобто на фоні сформованої толерантності, визначався вплив фенобарбіталу на ефекти відповідних аналізаторів нейромедіаторних систем.

Попередньо були встановлені основні ефекти використаних аналізаторів і вплив на них досліджуваних антиконвульсантів у нетолерантних тварин.

Неконкурентний антагоніст ГАМК-рецепторів пікротоксин вводився внутрішньочеревно в дозі 6 мг/кг, що викликало у інтактних тварин розвиток клоніко-тонічних судом у 100% тварин. Фенобарбітал (20 мг/кг), введений в/ч за 1 год до пікротоксину, в 100% попереджує розвиток судомного синдрому.

Проте в аналогічних умовах досліду, але на фоні попередньо сформованої толерантності до фенобарбіталу, цей антиконвульсант не проявляв протисудомного впливу відносно пікротоксинових судом (табл. 6.1).

Отримані результати дають підставу для висновку про те, що розвиток толерантності до дії фенобарбіталу супроводжується зниженням чутливості пікротоксин-зв’язуючої ділянки ГАМКА –рецептора.

Таблиця 6.1

**Вплив фенобарбіталу на судомну дію пікротоксину**

**у нетолерантних і толерантних тварин**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин  з наявністю судомного синдрому, % |
| Пікротоксин, 6 мг/кг, в/ч (контроль) | 8/8 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  пікротоксин, 6 мг/кг, в/ч | 0/8 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + пікротоксин, 6 мг/кг, в/ч | 8/8 | 100 |

Коразол є неконкурентним блокатором ГАМКА – рецепторів, який в дозі 100 мг/кг, в/ч у 90% білих мишей викликає клоніко-тонічні судоми. Фенобарбітал (20 мг/кг, в/ч) у 100% попереджує розвиток коразолових судом. Разом з цим при введенні цієї ж дози фенобарбіталу толерантним тваринам антикоразолової дії не спостерігається (рис. 3).

Конкурентний антагоніст ГАМК-рецепторів бікукулін в дозі 20 мг/кг, в/ч у 100% білих мишей призводить до появи клонічних і у 75% тонічних судом. Фенобарбітал, введений в/ч в дозі 20 мг/кг, попереджує розвиток судомного синдрому у 87,5% тварин. У тварин, толерантних до дії фенобарбіталу, протисудомна активність препарату нівелюється (табл. 6.2).

Протисудомна активність фенобарбіталу проявляється і відносно блокатора синтезу ГАМК – тіосемікарбазиду, який в дозі 20 мг/кг, в/ч у 100% білих мишей викликє клоніко-тонічні судоми. При сумісному введенні тіосемікарбазиду (20 мг/кг) і фенобарбіталу (20 мг/кг) протисудомний ефект спостерігається у 70% тварин. Проте при введенні цієї ж дози фенобарбіталу толерантним тваринам тіосемікарбазидні судоми реєструються у 80% випадків (рис. 4).

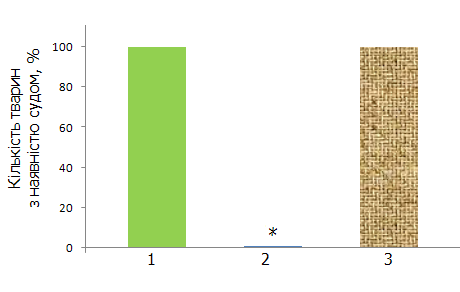


Рис. 3. Антикоразоловий (протисудомний) вплив фенобарбіталу у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії антиконвульсанта

Позначення: 1. Коразол, 100 мг/кг, в/ч (контроль);

2. Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч + коразол, 100 мг/кг, в/ч;

3. Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч, на фоні толерантності до

цього препарату + коразол, 100 мг/кг, в/ч.

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю.

Таблиця 6.2

**Протисудомна активність фенобарбіталу на моделі бікукулінових судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Бікукулін, 20 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 6/8 | 75 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  бікукулін, 20 мг/кг, в/ч  (контроль II) | 1/8 | 12,5\* |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + бікукулін, 20 мг/кг, в/ч | 5/8 | 62,5◊ |

Примітки: \* – р<0,05 відносно контролю I;

◊ –р<0,05 відносно контролю II.

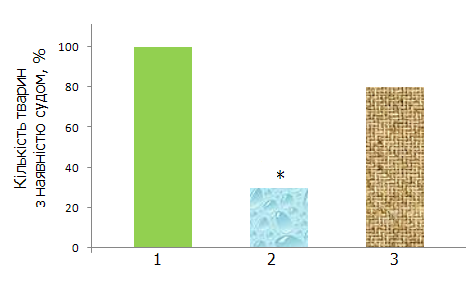


Рис. 4. Протисудомна ефективність фенобарбіталу на моделі тіосемікарбазидних судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії фенобарбіталу (n=10)

Позначення: 1. Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч (контроль);

2. Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч + тіосемікарбазид, 20 мг/кг,

в/ч;

3. Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч, введений толерантним

тваринам + тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч.

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю і толерантних тварин.

Таким чином, проведені досліди з використанням неконкурентних (пікротоксин, коразол), конкурентних (бікукулін) блокаторів ГАМК-рецепторів та інгібітора синтезу ГАМК (тіосемікарбазид) показують, що при формуванні толерантності до протисудомної дії фенобарбіталу спостерігаються суттєві зміни у функціонуванні ГАМК-ергічної нейромедіаторної системи мозку. При цьому відзначається зниження активності цієї системи як на рівні різних популяцій (субодиниць) ГАМК-рецепторів, так і на рівні біосинтезу гамма-аміномасляної кислоти.

Стрихнін є селективним антагоністом гліцинових рецепторів, який у дозі 1,5 мг/кг при внутрішньочеревному введенні білим мишам в 100% випадків викликає розвиток клоніко-тонічних судом. Фенобарбітал у дозі 20 мг/кг, введений в/ч за 1 год до стрихніну, проявляє виражену протисудомну дію. У наступній серії дослідів фенобарбітал в дозі 20 мг/кг вводився щоденно, протягом 7 діб. На 8 добу, на фоні толерантності, фенобарбітал (20 мг/кг) вводився за 1 год до стрихніну. Виявилося, що при цих умовах досліду антистрихнінова дія фенобарбіталу зберігається в повному об’ємі, що свідчить про те, що гліцинергічна система не приймає участі в механізмах формування толерантності до фармакологічних ефектів даного антиконвульсанта (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Протисудомна активність фенобарбіталу на моделі стрихнінових судом**

**у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Стрихнін, 1,5 мг/кг, в/ч  (контроль) | 8/8 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  стрихнін, 1,5 мг/кг, в/ч | 0/6 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + стрихнін, 1,5 мг/кг, в/ч | 0/8 | 0 |

У формуванні фармакологічних ефектів фенобарбіталу, крім ГАМК-ергічної системи, бере участь ще одна гальмівна система – серотонінергічна. Для аналізу функціонування цієї системи був використаний резерпін, який вводився білим мишам в/ч, в дозі 15 мг/кг. Через 2 год після цього у тварин реєструвалася характерна для дії резерпіну пілоерекція і поза «горб», що пов’язано з дефіцитом серотонінергічної передачі. Попереднє внутрішньочеревне введення фенобарбіталу в дозі 20 мг/кг за 1 год до резерпіну попереджувало розвиток резерпінових симптомів – пілоерекції і пози «горб» (табл. 6.4).

У той же час у тварин, толерантних до дії фенобарбіталу, антирезерпіновий ефект цього препарату не проявлявся (табл. 6.4). Ці результати дають підставу для висновку про те, що зміни у функціонуванні серотонінергічної системи мають певне значення в механізмах формування толерантності до дії фенобарбіталу.

Таблиця 6.4

**Дія фенобарбіталу на резерпінові ефекти у нетолерантних тварин**

**і тварин, толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю пози «горб» та пілоерекції /кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю пози «горб» та пілоерекції, % |
| Резерпін, 15 мг/кг, в/ч  (контроль) | 8/8 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  резерпін, 15 мг/кг, в/ч | 0/8 | 0 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + резерпін, 15 мг/кг, в/ч | 6/6 | 100 |

Механізми протисудомної дії фенобарбіталу пов’язані не тільки з активацією гальмівних систем мозку (ГАМК-, гліцин- і серотонінергічної), але й інгібуванням збуджуючої глутаматергічної системи. Агоніст каїнат-чутливої субодиниці NMDA-рецепторів каїнова кислота, введена білим мишам внутрішньочеревно в дозі 30 мг/кг, у 100% тварин викликає клонічні судоми. Фенобарбітал (20 мг/кг, в/ч) у 70% білих мишей попереджував розвиток каїнатних судом і приблизно у такої ж кількості (60%) тварин, толерантних до дії фенобарбіталу (табл. 6.5). Ці дані вказують на те, що глутаматергічна система не приймає участі в механізмі розвитку толерантності до протисудомної дії фенобарбіталу.

Таблиця 6.5

**Протисудомна активність фенобарбіталу на моделі каїнатних судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії фенобарбіталу**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Каїнова кислота, 30 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 8/8 | 100 |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  каїнова кислота, 30 мг/кг, в/ч  (контроль II) | 3/10 | 30\* |
| Фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + каїнова кислота, 30 мг/кг, в/ч | 4/10 | 40\* |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю I.

* 1. **Карбамазепін**

Конкурентний антагоніст ГАМКА рецепторів – бікукулін, введений білим мишам в/ч, в дозі 20 мг/кг, у 80% тварин призводить до розвитку клоніко-тонічних судом. Карбамазепін в дозі 125 мг/кг, введений в/ч за 1 год до бікукуліну, попереджує появу судом. Проте в дослідах, коли карбамазепін вводився на 15-й день після попереднього щоденного введення препарату, його протисудомна активність щодо бікукулінових судом не відтворювалася, що свідчить про участь ГАМК-рецепторного механізму в розвитку толерантності до даного протисудомного препарату (табл. 6.6).

Рецепторний ГАМК-ергічний компонент механізму розвитку толерантності до дії карбамазепіну підтверджується результатами дослідів з використанням неконкурентного блокатора ГАМКА рецепторів – коразолу. У нетолерантних тварин до дії карбамазепіну цей антиконвульсант (у дозі 125 мг/кг, в/ч) ефективно попереджує появу коразолових судом, тоді як у толерантних тварин антикоразолового впливу карбамазепіну не спостерігається (рис. 5).

Таблиця 6.6

**Протисудомна активність карбамазепіну в моделі бікукулінових судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії карбамазепіну**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин  з наявністю судомного синдрому, % |
| Бікукулін, 20 мг/кг, в/ч (контроль I) | 8/10 | 80 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  бікукулін, 20 мг/кг, в/ч (контроль II) | 1/8 | 12,5\* |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + бікукулін, 20 мг/кг, в/ч | 6/8 | 75◊ |

Примітки: \* – р<0,05 відносно контролю I;

◊ –р<0,05 відносно контролю II.

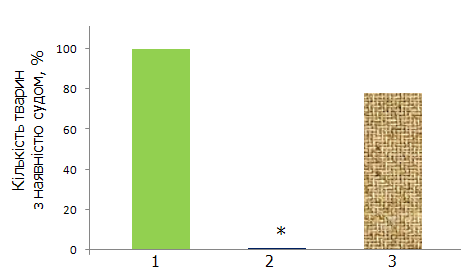


Рис. 5. Протисудомна ефективність карбамазепіну на моделі коразолових судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії даного антиконвульсанта (n=8-10)

Позначення: 1. Коразол, 100 мг/кг, в/ч (контроль);

2. Карбамазепін, 125 мг/кг, за 1 год до коразолу,

100 мг/кг, введений нетолерантним білим мишам;

3. Карбамазепін, 125 мг/кг, за 1 год до коразолу,

введений толерантним тваринам.

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю і толерантних тварин.

Участь ГАМК-ергічної системи у формуванні толерантності до карбамазепіну проявляється також у дослідах з використанням інгібітора синтезу ГАМК – тіосемікарбазиду. У групі нетолерантних білих мишей карбамазепін на моделі тіосемікарбазидних судом проявляє виражену протисудомну дію, яка нівелюється при його введенні в дозі 125 мг/кг, в/ч групі толерантних тварин (рис. 6).

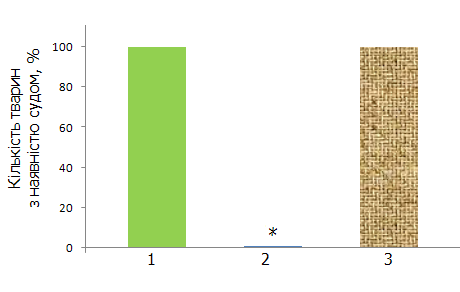


Рис. 6. Протисудомна активність карбамазепіну на моделі тіосемікарбазидних судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії карбамазепіну (n=6)

Позначення: 1. Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч (контроль);

2. Карбамазепін, 125 мг/кг, введений нетолерантним

білим мишам + тіосемікарбазид, 20 мг/кг;

3. Карбамазепін, 125 мг/кг, введений толерантним

тваринам + тіосемікарбазид, 20 мг/кг.

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю і толерантних тварин.

Гліцинергічний компонент механізму дії карбамазепіну, певно, не відіграє суттєвої ролі у формуванні толерантності до цього антиконвульсанта. Про це свідчить той факт, що карбамазепін в дозі 125 мг/кг, введений внутрішньочеревно білим мишам, у 60% попереджує появу стрихнінових судом і у 50% виявляє антистрихнінову дію у тварин, яким попередньо вводився препарат протягом 14 днів, тобто в період того часу, коли формується толерантність (табл. 6.7).

Таблиця 6.7

**Протисудомна ефективність карбамазепіну в моделі стрихнінових судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії карбамазепіну**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому/кількість тварин в досліді | Кількість тварин з наявністю судомного синдрому, % |
| Стрихнін, 1,5 мг/кг, в/ч  (контроль I) | 10/10 | 100 |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  стрихнін, 1,5 мг/кг, в/ч (контроль II) | 4/10 | 40\* |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + стрихнін, 1,5 мг/кг, в/ч | 5/10 | 50\* |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю I.

**6.3 Вальпроат натрію**

У дослідах на білих мишах вальпроат натрію (155 мг/кг) виявляє виражену антикоразолову дію у нетолерантних тварин, що повністю нівелюється в групі толерантних до дії вальпроату натрію тварин (рис. 7). Оскільки коразол є антагоністом ГАМК-рецепторів, то ці дані вказують на те, що ГАМК-ергічна система бере участь у формуванні толерантності до протисудомної дії вальпроату натрію.

Певну роль в цьому процесі, вочевидь, відіграє серотонінергічна система. Про це свідчать результати дослідів, проведені на білих мишах, які показують, що вальпроат натрію в дозі 155 мг/кг, в/ч у 100% тварин попереджує появу резерпінової симптоматики (пілоерекція, поза «горб»). Антирезерпінова дія вальпроату натрію, введеного на 15-й день після щоденного застосування препарату, проявляється у 60% тварин (табл. 6.8).

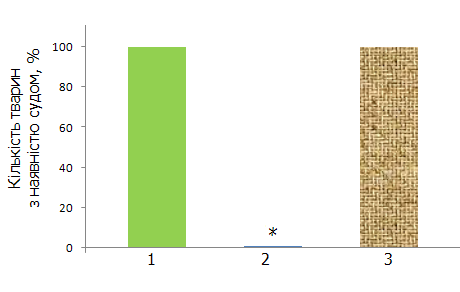


Рис. 7. Протисудомна активність вальпроату натрію в моделі коразолових судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії вальпроату натрію

Позначення: 1. Коразол, 100 мг/кг, в/ч (контроль);

2. Вальпроат натрію, 155 мг/кг + коразол, 100 мг/кг;

3. Вальпроат натрію, 155 мг/кг, введений толерантним

тваринам + коразол, 100 мг/кг.

Таблиця 6.8

**Антирезерпінова дія вальпроату натрію у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії цього препарату**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин з наявністю резерпінових симптомів /кількість тварин в досліді | Кількість тварин  з наявністю резерпінових симптомів, % |
| Резерпін, 15 мг/кг, в/ч (контроль) | 10/10 | 100 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч +  резерпін, 15 мг/кг, в/ч | 0/10 | 0 |
| Вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + резерпін, 15 мг/кг, в/ч | 4/10 | 40\* |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю.

**6.4 Топірамат**

Топірамат у дозі 300 мг/кг при внутрішньочеревному введенні білим мишам ефективно попереджує розвиток тіосемікарбазидних судом. Проте при введенні цього антиконвульсанта толерантним тваринам, його протисудомна активність не проявляється (рис. 8). У зв’язку з тим, що судомна дія тіосемікарбазиду обумовлена зниженням синтезу ГАМК, можна зробити висновок про те, що в механізмі формування толерантності до топірамату задіяні біохімічні процеси, пов’язані з синтезом ГАМК.

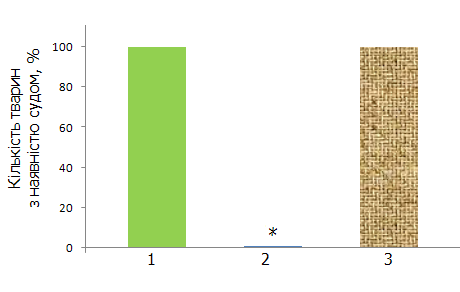


Рис. 8. Протисудомна активність топірамату в моделі тіосемікарбазидних судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії топірамату

Позначення: 1. Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч (контроль);

2. Топірамат, 300 мг/кг + тіосемікарбазид, 20 мг/кг;

3. Топірамат, 300 мг/кг, введений толерантним

тваринам + тіосемікарбазид, 20 мг/кг.

**6.5 Ламотриджин**

Досліди проведені на білих мишах показали, що ламотриджин при внутрішньочеревному введенні в дозі 30 мг/кг у 60% тварин попереджує розвиток тіосемікарбазидних судом. При введенні цієї ж дози ламотриджину толерантним тваринам розвиток тіосемікарбазидних судом спостерігається у 75% випадків (табл. 6.9).

Зниження протисудомної активності ламотриджину у толерантних тварин майже в 2 рази може свідчити про те, що зміни в механізмах синтезу ГАМК частково беруть участь у формуванні толерантності при тривалому введенні даного протисудомного препарату.

Таблиця 6.9

**Протисудомна ефективність ламотриджину в моделі тіосемікарбазидних судом у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії ламотриджину**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Умови досліду | Кількість тварин  з наявністю тіосемікарбазидних судом /кількість тварин в досліді | Кількість тварин  з наявністю тіосемікарбазидних судом, % |
| Тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч  (контроль) | 10/10 | 100 |
| Ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч +  тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч | 4/10 | 40\* |
| Ламотриджин, 155 мг/кг, в/ч,  введений толерантним тваринам + тіосемікарбазид, 20 мг/кг, в/ч | 6/8 | 75 |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю.

Проведені дослідження підтверджують положення про те, що нейромедіаторні системи беруть участь у механізмах дії протисудомних препаратів. Про це свідчить той факт, що під впливом антиконвульсантів (фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію, топірамат, ламотриджин) змінюються специфічні ефекти аналізаторів ГАМК-, гліцин-, глутамат- і серотонінергічної систем мозку.

При тривалому введенні досліджуваних протисудомних засобів спостерігається видозміна ефектів використовуваних аналізаторів функціонування нейромедіаторних систем, які реєструвалися у толерантних тварин. Причому в першу чергу це стосується ГАМК-ергічної системи як на рівні різних популяцій субодиниць ГАМК-рецепторів, так і в плані біосинтезу ГАМК. Це підтверджується тим, що антагоністична дія протисудомних засобів відносно ГАМК-міметичних речовин (коразол, пікротоксин, бікукулін, тіосемікарбазид) нівелюються при формуванні толерантності до досліджуваних антиконвульсантів. У певній мірі у розвитку толерантності до фенобарбіталу і вальпроату натрію бере участь й інша гальмівна система мозку, а саме серотонінергічна. Поряд з цим відмінностей у функціонуванні гліцин- і глутаматергічної систем між нетолерантними тваринами і тваринами, толерантними до дії фенобарбіталу і карбамазепіну, не виявилося.

**Висновки до розділу 6**

1. Одноразове введення антиконвульсантів (фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату, ламотриджину) в протисудомних дозах інтактним тваринам попереджує розвиток ефектів аналізаторів функціонування ГАМК-, гліцин-, глутамат- і серотонінергічної систем мозку (коразолу, пікротоксину, бікукуліну, тіосемікарбазиду, стрихніну, каїнової кислоти і резерпіну).
2. У толерантних тварин нівелюється протисудомна активність досліджуваних антиконвульсантів при введенні ГАМК-ергічних хемоконвульсантів рецепторно-біохімічної дії (коразол, пікротоксин, бікукулін, тіосемікарбазид).
3. Антирезерпінова дія фенобарбіталу і вальпроату натрію у толерантних тварни не відтворюється, що свідчить про участь серотонінергічної системи у формуванні терапевтичної резистентності до вказаних протисудомних препаратів.
4. З використанням специфічних аналізаторів стрихніну і каїнової кислоти не виявлено відмінностей у функціонуванні гліцин- і глутаматергічної систем між нетолерантними і толерантними тваринами при дії фенобарбіталу і карбамазепіну.

Публікації в наукових виданнях за результатами експериментальних досліджень, наведеними в даному розділі дисертаційної роботи:

1. Мовчан О.Д. Фармакодинамічні механізми розвитку толерантності до дії протисудомних засобів / О.Д. Мовчан // Світ медицини та біології. – 2015. – № 3 (52). – С. 121-124.

2. Мовчан О.Д Участь ГАМК-ергічної системи у формуванні толерантності до дії топірамату та ламотриджину / О.Д. Мовчан // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2015. – Т. 7, Вип. 2. – С. 163-167.

3. Мовчан О.Д. Фармакодинамічні механізми розвитку толерантності до дії протисудомних засобів / О.Д.Мовчан // Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики, матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 20-21 грудня 2013 р.: тези доповідей. – Львів, 2013. – С. 102-104.

**РОЗДІЛ 7**

**ФАРМАКОКІНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ**

**ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ДІЇ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ**

Поряд із своєрідними змінами функціонування нейромедіаторних систем мозку, причинами формування толерантності до дії антиконвульсантів можуть бути зсуви ряду фармакокінетичних параметрів цієї групи лікарських препаратів. Теоретично це може бути пов’язано з кількісним перерозподілом протисудомних засобів у крові і мозку та змінами активності ферментів метаболізму ліків, в першу чергу ферментів системи цитохрому Р-450.

Тому в наступній частині роботи були проведені дослідження, спрямовані на визначення вмісту антиконвульсантів у крові і мозку нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії протисудомних препаратів.

Крім того, вивчався вплив антиконвульсантів на тривалість сну, викликаного дією барбітуратів (гексенал) у нетолерантних і толерантних тварин, що давало можливість оцінити функціональний стан ферментативної системи Р-450.

Кількісні зміни вмісту протисудомних препаратів у крові і мозку визначалися в дослідах на білих щурах, яким за 1 год до забору крові і декапітації внутрішньочеревно вводилися: фенобарбітал в дозі 20 мг/кг, карбамазепін – 125 мг/кг, вальпроат натрію – 155 мг/кг, топірамат – 300 мг/кг, ламотриджин – 30 мг/кг.

Вказані антиконвульсанти в цих же дозах внутрішньочеревно вводилися білим мишам при вивченні їх впливу на тривалість гексеналового сну. Гексенал вводився внутрішньочеревно в дозі 100 мг/кг, в/ч, через 1 год після протисудомних засобів. Параметри сну (тривалість бокового положення тварин) порівнювалися з даними контролю, а також між нетолерантними і толерантними тваринами.

Толерантність до дії антиконвульсантів формувалася шляхом щоденного, одноразового їх введення: фенобарбіталу протягом 7 днів; карбамазепіну, депакіну, топірамату і ламотриджину – протягом 14 днів. Зазначені протисудомні препарати вводилися внутрішньочеревно.

**7.1 Фенобарбітал**

Проведені досліди показали, що при введенні фенобарбіталу тваринам, толерантним до цього антиконвульсанта (на 8-й день після попереднього 7-денного введення препарату), його вміст у крові в 2,3 рази вище, ніж у нетолерантних тварин (відповідно 88,29±8,4 мкг/мл і 38,34±4,58 мкг/мл при р<0,05 (рис. 9). Це дає підставу для висновку про те, що при тривалому введенні фенобарбіталу на фоні розвитку толерантності спостерігається ефект його кумуляції. Тому підвищення дози фенобарбіталу для подолання терапевтичної резистентності до його протисудомної дії є недоцільним, оскільки при цьому можливе наростання побічних і токсичних ефектів без очікуваного підвищення лікувальної активності.

Вміст фенобарбіталу в мозку після його внутрішньочеревного введення визначався в лівій і правій півкулях (без мозочка). Такий підхід був виправданий у зв’язку з наявністю даних про переважну (домінантну) дію різних протисудомних препаратів на ліву чи праву півкулю головного мозку. У зв’язку з цим не виключена можливість нерівномірного надходження (розподілу) антиконвульсантів в півкулі мозку.

Через 1 год після внутрішньочеревного введення фенобарбіталу в дозі 20 мг/кг нетолерантним тваринам у лівій і правій півкулях мозку визначається приблизно однакова кількість препарату, що відповідно складає 18,66±1,68 мкг/г і 19,26±1,73 мкг/г (табл. 7.1).

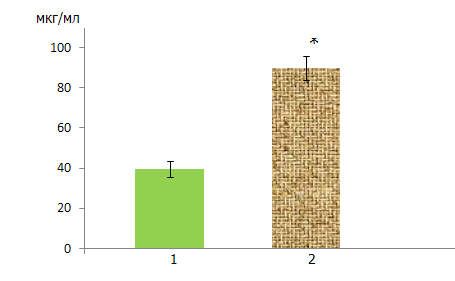


Рис. 9. Вміст фенобарбіталу в крові білих щурів при введенні препарату нетолерантним тваринам і тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу (n=6)

Позначення: 1 – нетолерантні тварини;

2 – толерантні тварини.

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

Таблиця 7.1

**Вміст фенобарбіталу в мозку білих щурів при в/ч введенні препарату нетолерантним і толерантним тваринам (М±m; n=6)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Серія дослідів | Вміст фенобарбіталу, мкг/г | |
| Ліва півкуля | Права півкуля |
| Нетолерантні тварини | 18,66±1,68 | 19,26±1,73 |
| Толерантні тварини | 37,49±4,27\* | 37,58±4,21\* |

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

При порівнянні вмісту фенобарбіталу в крові і мозку можна констатувати помірну біодоступність препарату, тому що співвідношення кров/мозок складає 2:1.

У тварин, яким вводився фенобарбітал на фоні сформованої толерантності до цього препарату, його кількість у тканинах головного мозку була в 2 рази більша, ніж у нетолерантних тварин (табл. 7.1). Відмінності в рівні фенобарбіталу в лівій і правій півкулях у толерантних тварин не виявлені.

Таким чином, при введенні фенобарбіталу толерантним тваринам його кількість у крові і мозку в 2 рази більше, ніж у нетолерантних тварин, що також свідчить про кумулятивний ефект препарату.

Кількісні зміни вмісту ліків в органах і тканинах можуть бути пов’язані з ферментативною активністю ферментів системи цитохрому Р-450.

Як згадувалося вище, про функціональний стан ферментів системи цитохрому Р-450 опосередковано можна судити за тривалістю гексеналового сну, який визначається за тривалістю бокового положення тварин при внутрішньочеревному введенні гексеналу в дозі 100 мг/кг.

Ці досліди були проведені на білих мишах, поділених на 3 групи (по n=6 в кожній групі):

1. контроль – інтактні миші, яким в/ч вводився гексенал в дозі 100 мг/кг;
2. нетолерантні тварини, яким за 1 год до гексеналу (100 мг/кг) в/ч вводився фенобарбітал (20 мг/кг);
3. тварини, яким попередньо протягом 7 днів вводився фенобарбітал (20 мг/кг), а на 8-й день фенобарбітал в цій же дозі вводився за 1 год до гексеналу.

Результати дослідів наведені в таблиці 7.2.

З даних таблиці видно, що при одноразовому введенні фенобарбіталу нетолерантним тваринам тривалість гексеналового сну не змінюється. Проте введення цієї ж дози фенобарбіталу толерантним тваринам призводить до зменшення тривалості гексеналового сну як по відношенню до контролю (в 2,4 рази), так і у порівнянні з нетолерантними тваринами (в 2,3 рази).

Таблиця 7.2

**Вплив фенобарбіталу на гексеналовий сон у нетолерантних і толерантних тварин (М±m; n=6)**

|  |  |
| --- | --- |
| Серії дослідів | Тривалість сну, хв |
| Гексенал, 100 мг/кг, в/ч (контроль) | 51,17±0,87 |
| Нетолерантні тварини:  фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч | 48,33±5,47 |
| Толерантні тварини:  фенобарбітал, 20 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч | 21,17±2,68\*◊ |

Примітки: \* – р<0,05 відносно контролю;

◊ –р<0,05 відносно нетолерантних тварин.

Вважається, що зниження тривалості барбітуратного сну під впливом будь-якого препарату пов’язано з індукцією ферментів системи Р-450. Тому отримані нами дані можуть свідчити про те, що тривале введення фенобарбіталу призводить до підвищення активності ферментів Р-450, тобто в даному випадку фенобарбітал проявляє властивості індуктора Р-450. У цій ситуації слід очікувати зниження рівня фенобарбіталу в крові і мозку толерантних тварин. Проте отримані результати вказують на те, що вміст фенобарбіталу в крові і мозку толерантних тварин не знижується, а більш, ніж у 2 рази, підвищується (рис. 10).

Ці уявні протиріччя можна пояснити наступним чином. Під впливом тривалої дії фенобарбіталу відбувається індукція Р-450, що знижує тривалість гексеналового сну, тим більше, що в метаболізмі фенобарбіталу і гексеналу бере участь одна і та сама ізоформа Р-450, а саме СУР 2С19. Паралельно з цим підвищується внутрішня спорідненість (афінітет) транспортних білків крові до фенобарбіталу, внаслідок чого є можливим утворення ковалентного зв’язку, що в кінцевому рахунку призводить до ефекту кумуляції препарату.

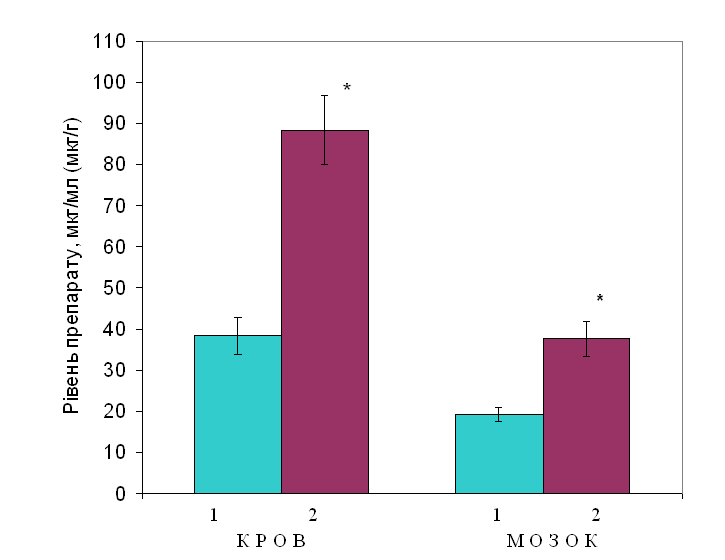


Рис. 10. Вміст фенобарбіталу в крові та мозку білих щурів при введенні препарату нетолерантним тваринам і тваринам, толерантним до дії фенобарбіталу (n=6)

Позначення: 1 – нетолерантні тварини;

2 – толерантні тварини.

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

Аналогічні процеси, ймовірно, проходять в тканинах мозку, але вже на рівні білкових субодиниць ГАМК-рецепторів. У цих умовах тривала активація ГАМК-рецептора викликає явище десенситизації, що попереджує генерацію гальмівного постсинаптичного потенціалу (ГПСП) і як наслідок зниження снодійного і протисудомного ефекту у толерантних тварин. Схематичне уявлення особливостей дії фенобарбіталу при його тривалому введенні наведені на рис. 11.

Виходячи з наведених даних та їх обговорення, можна зробити висновок про те, що для подолання терапевтичної резистентності до протисудомного впливу фенобарбіталу шляхом підвищення його дози не тільки не показано, але й протипоказано, оскільки це призводить до підсилення побічних і токсичних ефектів препарату, без очікуваного покращення лікувальної дії.

|  |
| --- |
| ГАМК-  рецептори головного мозку |

ефект кумуляції препарату

К

Р

О

В ефект кумуляції препарату

|  |
| --- |
| Р-450 печінки |

індукція Р-450

Рис. 11. Схема особливостей дії фенобарбіталу при його тривалому введенні

**7.2 Карбамазепін**

Особливості фармакокінетичних параметрів карбамазепіну при розвитку толерантності до дії препарату оцінювалася за зміною його вмісту у крові та мозку, а також впливу на барбітуратний сон.

При визначенні рівня карбамазепіну в крові та мозку препарат вводився внутрішньочеревно за 1 год до забору крові і декапітації. При цьому порівнювалася кількість карбамазепіну в крові та мозку у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії препарату.

Толерантність формувалася шляхом щоденного введення карбамазепіну (125 мг/кг, в/ч) протягом 14 днів. На 15-й день препарат вводився за 1 год до декапітації.

Проведені дослідження показали, що у тварин, толерантних до дії карбамазепіну, вміст препарату в крові різко знижується і визначається лише у вигляді слідів: з 51,63±1,51мкг/мл у нетолерантних тварин до 0,026±0,001 у толерантних (рис. 12). Паралельно з цим у толерантних тварин рівень карбамазепіну у лівій і правій півкулях значно знижується і стає меншим, ніж у нетолерантних тварин в 400 раз (табл. 7.3).

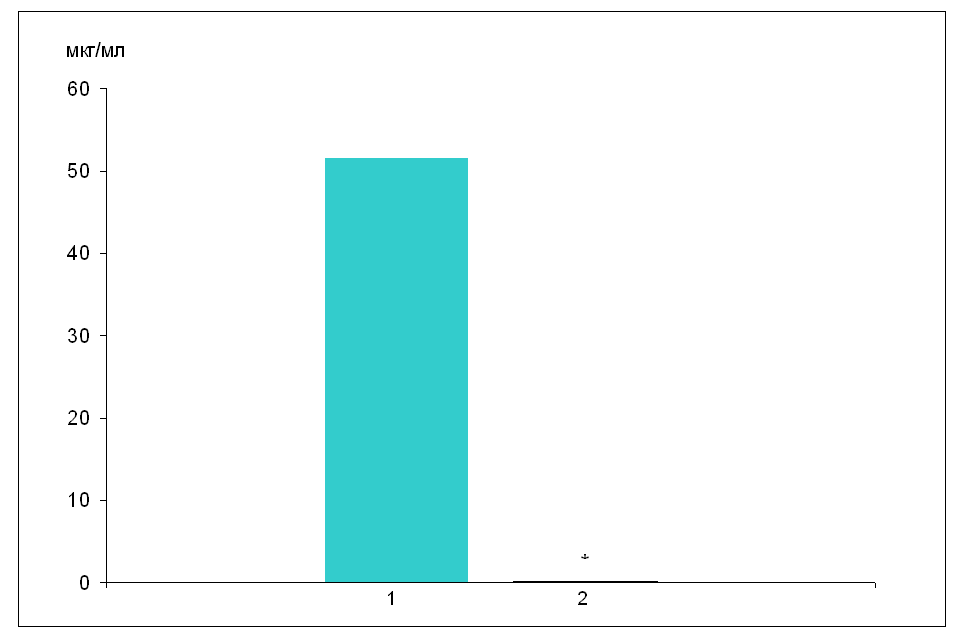


Рис. 12. Рівень карбамазепіну у крові нетолерантних тварин і тварин, толерантних до протисудомної дії препарату (n=6)

Позначення: 1 – нетолерантні тварини;

2 – толерантні тварини.

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

Таблиця 7.3

**Вміст карбамазепіну в мозку нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії препарату (М±m; n=6)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Серія дослідів | Вміст карбамазепіну, мкг/г | |
| Ліва півкуля | Права півкуля |
| Нетолерантні тварини | 56,61±3,70 | 59,38±3,88 |
| Толерантні тварини | 0,13±0,03\* | 0,18±0,04\* |

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

Таким чином, спостерігається задовільний збіг зниження рівня карбамазепіну в крові і мозку тварин, толерантних до протисудомної дії даного препарату (рис. 13). Власне, практично відсутність молекул карбамазепіну у мозку толерантних тварин є об’єктивним фактором, що пояснює причину розвитку терапевтичної резистентності при тривалому застосуванні препарату.

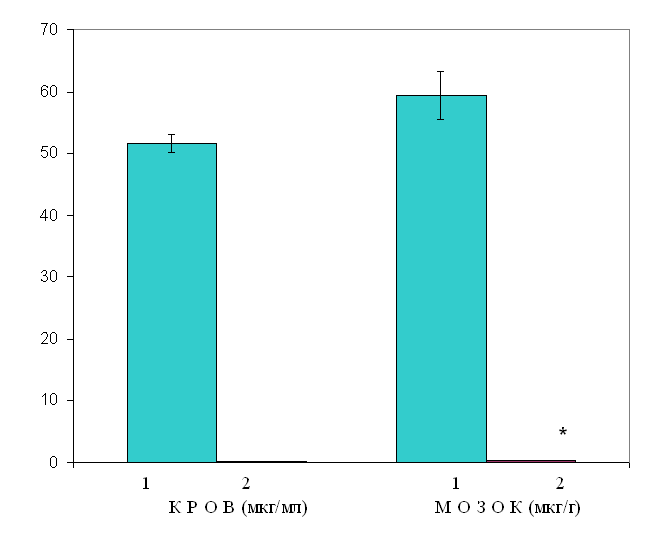


Рис. 13. Співвідношення рівня карбамазепіну у крові і мозку нетолерантних і толерантних тварин

Позначення: 1 – нетолерантні тварини;

2 – толерантні тварини.

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

Одна з причин кількісних зсувів вмісту карбамазепіну в крові і мозку толерантних тварин може бути пов’язана зі змінами активності ферментів системи цитохрому Р-450. Опосередкованим показником функціонального стану ферментів Р-450 є визначення впливу карбамазепіну на тривалість барбітуратного сну (гексеналового).

Досліди проведені на білих мишах. Контрольним тваринам внутрішньочеревно вводився гексенал у дозі 100 мг/кг і реєструвалася тривалість сну. Дослідній групі тварин за 1 год до гексеналу в/ч вводився карбамазепін у дозі 125 мг/кг. Другу дослідну групу складали тварини, толерантні до дії карбамазепіну. Толерантність формувалася шляхом щоденного в/ч введення карбамазепіну (125 мг/кг) протягом 14 днів. На 15-й день карбамазепін (125 мг/кг) вводився за 1 год до гексеналу.

Отримані результати показали, що у нетолерантних тварин карбамазепін дещо збільшував тривалість гексеналового сну, проте ці зміни були недостовірними. У толерантних тварин карбамазепін знижував тривалість гексеналового сну по відношенню до нетолерантних на 25%, але ці зміни також були статистично недостовірними (табл. 7.4).

Таблиця 7.4

**Вплив карбамазепіну на тривалість гексеналового сну (М±m)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Серії дослідів | Тривалість сну, хв | |
| Гексенал, 100 мг/кг, в/ч (контроль) | 51,1±0,87 | |
| Карбамазепін, 125 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч | Нетолерантні  тварини | Толерантні тварини |
| 61,2±7,58  n=6 | 46,6±2,7  n=6 |

Отже, в даному випадку можна вважати, що у толерантних тварин спостерігається лише тенденція прояву карбамазепіна як індуктора Р-450. Пояснити це можна тим, що барбітурати є субстратом для ізоформи Р-450 – 2С19, тоді як карбамазепін – для ізоформ 3А4, 2С8 і 2В6. Виходячи з отриманих даних, можна зробити висновок про те, що значне зниження рівня карбамазепіну у крові і мозку толерантних тварин лише частково пов’язане з індукцією ізоформи 2С19. Можливо це обумовлено індукцією специфічних для карбамазепіну ізоформ Р-450 (3А4, 2С8 і 2В6) і/або функціональними змінами транспортних білків, зокрема, зі зниженням їх афінітету до молекул карбамазепіну.

Отримані результати показують, що навряд чи буде виправданим підвищення дози карбамазепіну як засобу подолання толерантності.

Крім того, слід відмітити рівноважну біодоступність карбамазепіну у нетолерантних тварин, оскільки співвідношення його концентрації у крові і мозку складає 1:1. Не відмічено також міжпівкульних відмінностей у вмісті карбамазепіну у нетолерантних тварин при його в/ч введенні (табл. 7.4).

**7.3 Вальпроат натрію**

При дослідженні фармакокінетичних параметрів вальпроату натрію у нетолерантних тварин була встановлена його середня біодоступність, оскільки співвідношення концентрації препарату кров/мозок складає 7:1. Через 1 год після внутрішньочеревного введення білим щурам вальпроату натрію в дозі 155 мг/кг, його рівень у крові становив 220 мкг/мл, у мозку – 32 мкг/г) (рис. 14). Міжпівкульних кількісних відмінностей вмісту вальпроату натрію не виявлено (табл. 7.5).

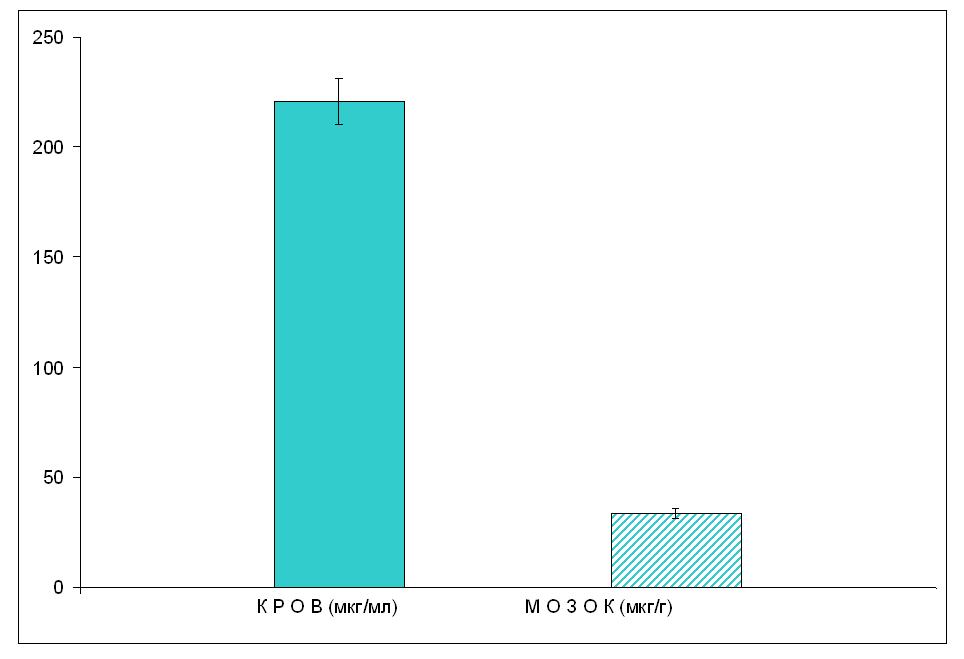


Рис. 14. Вміст вальпроату натрію у крові і мозку нетолерантних тварин через 1 год після в/ч введення препарату у дозі 155 мг/кг

Таблиця 7.5

**Вміст вальпроату натрію у крові нетолерантних і толерантних тварин через 1 год після в/ч введення препарату в дозі 155 мг/кг**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Серії дослідів | Кількість вальпроату натрію, мкг/г | |
| Ліва півкуля | Права півкуля |
| Нетолерантні тварини | 31,04±2,78 | 33,63±2,47 |
| Толерантні тварини | 0 | 0 |

У наступних серіях дослідів визначався вміст вальпроату натрію у крові і мозку тварин, толерантних до протисудомної дії даного антиконвульсанта. Толерантність формувалася шляхом щоденного в/ч введення вальпроату натрію у дозі 155 мг/кг, протягом 14 днів.

На 15-й день вальпроат натрію у дозі 155 мг/кг вводився за 1 год до забору тканин для дослідження.

Отримані результати показали, що у крові толерантних тварин вальпроат натрію не визначається (рис. 15).

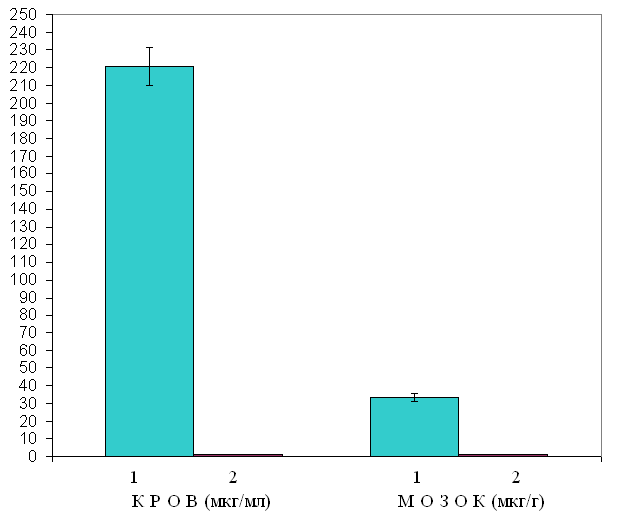


Рис. 15. Співвідношення рівня вальпроату натрію у крові і мозку нетолерантних і толерантних тварин

Позначення: 1 – нетолерантні тварини;

2 – толерантні тварини.

Аналогічна картина спостерігається при дослідженні вмісту вальпроату натрію у лівій і правій півкулях мозку. При цьому у мозку толерантних тварин вальпроат натрію також не визначався (табл. 7.5).

Таким чином, у крові толерантних тварин по відношенню до нетолерантних, рівень вальпроату натрію знижується до нуля і тому препарат не надходить до тканин головного мозку (рис. 16), що призводить до припинення його протисудомної дії, тобто розвитку толерантності (терапевтичної резистентності).

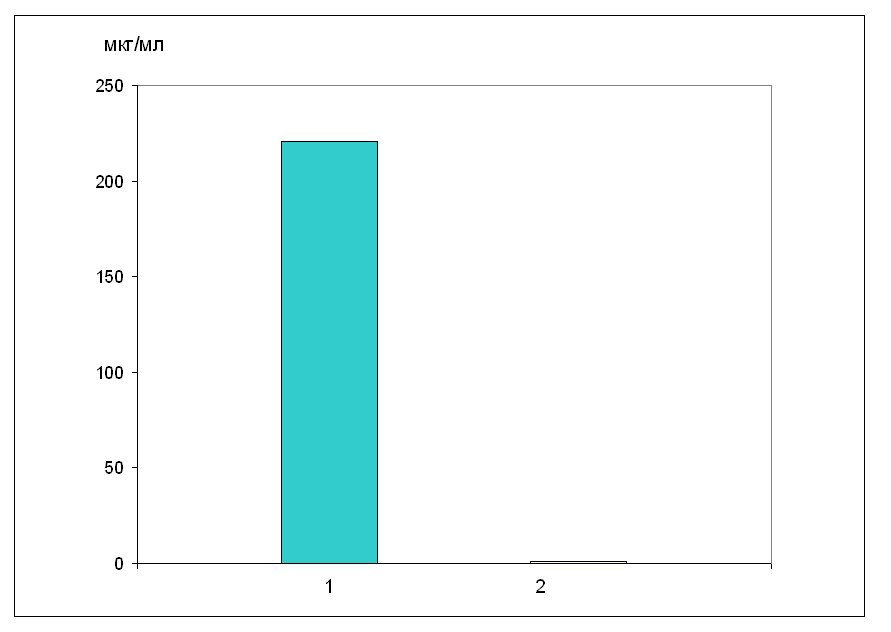


Рис. 16. Вміст вальпроату натрію у крові нетолерантних і толерантних тварин через 1 год після в/ч введення препарату у дозі 155 мг/кг

Як вказувалося вище, однією з альтернатив, що призводить до зниження концентрації лікарського препарату в організмі, є індукція ферментів цитохрому Р-450. З цією метою вивчався вплив вальпроату натрію на тривалість барбітуратного сну (гексеналового), що є опосередкованим показником функціонального стану ферментів Р-450.

Досліди проводилися на білих мишах, які були розділені на 3 експериментальні групи. Перша група – контрольна, в якій реєструвалася тривалість сну у інтактних тварин під впливом в/ч введення гексеналу у дозі 100 мг/кг. У другій групі визначався вплив одноразово введеного вальпроату натрію, в/ч, у дозі 155 мг/кг на тривалість барбітуратного сну. У третій групі вивчалася тривалість барбітуратного сну у тварин, толерантних до дії вальпроату натрію. Толерантність формувалася шляхом щоденного, внутрішньочеревного введення вальпроату натрію у дозі 155 мг/кг, протягом 14 днів. На 15-й день вальпроат натрію вводився за 1 год до снодійної дози гексеналу. Отримані результати наведені в таблицях 7.7. Вальпроат натрію при введенні інтактним тваринам достовірно знижує тривалість гексеналового сну на 12%. В аналогічних умовах, але на фоні толерантності до дії вальпроату натрію, тривалість гексеналового сну по відношенню до контролю I знижується в значно більшій мірі і складає 44% (табл. 7.6).

Таблиця 7.6

**Вплив вальпроату натрію на тривалість**

**гексеналового сну (М±m; n=6)**

|  |  |
| --- | --- |
| Серії дослідів | Тривалість сну, хв |
| Гексенал, 100 мг/кг, в/ч (контроль I) | 51,17±0,87 |
| Нетолерантні тварини:  вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч (контроль II) | 44,83±1,76\* |
| Толерантні тварини:  вальпроат натрію, 155 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч | 29,0±5,06\*◊ |

Примітки: \* – р<0,05 відносно контролю I;

◊ –р<0,05 відносно контролю II.

Виражене зниження тривалості барбітуратного (гексеналового) сну у тварин, толерантних до дії вальпроату натрію, опосередковано свідчить, що в цих умовах даний антиконвульсант проявляє властивості індуктора ферментів цитохрому Р-450.

Це може бути причиною зниження рівня вальпроату натрію у крові і мозку толерантних тварин майже до нуля і робить обґрунтованим висновок про недоцільність підвищення дози вальпроату натрію з метою подолання терапевтичної резистентності до даного препарату.

**7.4 Ламотриджин**

Проведені дослідження показали високу біодоступність ламотриджину. При внутрішньочеревному введенні препарату інтактним білим щурам у дозі 30 мг/кг через 1 год співвідношення вмісту препарата кров/мозок складає 1:1,3 (18,39±0,74 мкг/мл у крові та приблизно 24 мкг/г в мозку). Міжпівкульних відмінностей вмісту ламотриджину при його в/ч введенні не виявлено (в лівій півкулі 25,72±1,53 мкг/г, в правій – 23,56±1,42 мкг/г).

Толерантність до дії ламотриджину формувалася щоденним, внутрішньочеревним введенням препарату у дозі 30 мг/кг, протягом 14 днів. На 15-й день ламотриджин вводився за 1 год до забору біологічного матеріалу (кров, мозок), у якому визначався вміст даного препарату.

Проведені дослідження показали, що у толерантних тварин по відношенню до нетолерантних, вміст ламотриджину у крові достовірно зростає на 12% (рис. 17). Паралельно з цим рівень ламотриджину у мозку толерантних тварин зростає на 30% (табл. 7.7).

Таким чином, розвиток толерантності до дії ламотриджину формується на фоні підвищеного вмісту препарата в крові, що природно призводить до зростання його рівня у тканинах мозку. При цьому приблизно зберігається співвідношення вмісту препарата кров/мозок (1:1,5), як і у нетолерантних тварин (рис. 18).

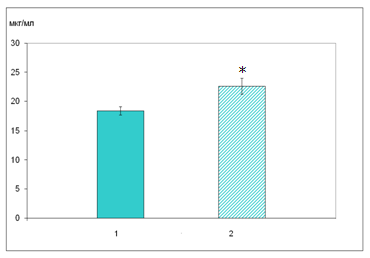


Рис. 17. Вміст ламотриджину у крові нетолерантних і толерантних тварин при в/ч введенні препарату в дозі 30 мг/кг (n=6)

Позначення: 1 – нетолерантні тварини;

2 – толерантні тварини.

Примітка: \* – р<0,05 відносно нетолерантних тварин.

Таблиця 7.7

**Рівень ламотриджину у мозку нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії препарату (М±m; n=6)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Серія дослідів | Вміст ламотриджину, мкг/г | |
| Ліва півкуля | Права півкуля |
| Нетолерантні тварини | 25,72±1,53 | 23,56±1,42 |
| Тварини, толерантні до дії ламотриджину | 37,20±4,27\* | 35,93±5,17\* |

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

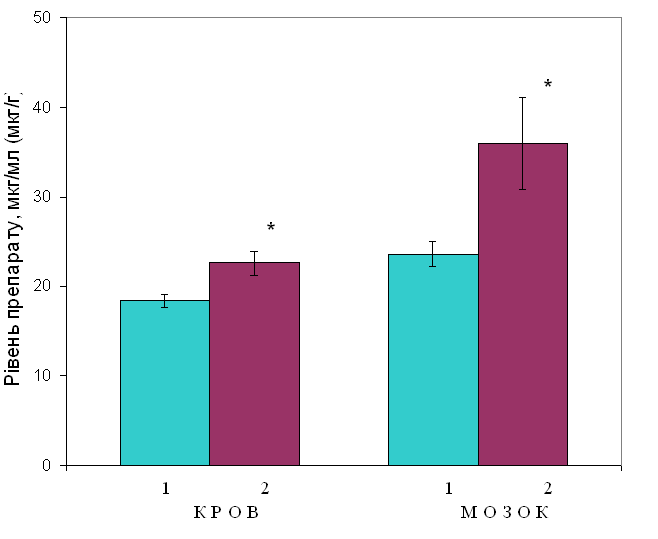


Рис. 18. Співвідношення вмісту ламотриджина в крові і мозку нетолерантних і толерантних тварин (n=6)

Позначення: 1 – нетолерантні тварини;

2 – толерантні тварини.

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

У наступній частині вивчався вплив ламотриджину у нетолерантних і толерантних тварин на тривалість гексеналового сну. Толерантність формувалася шляхом щоденного введення ламотриджину у дозі 30 мг/кг, протягом 14 днів. На 15-й день за 1 год до гексеналу (100 мг/кг, в/ч) вводився ламотриджин (30 мг/кг) і порівнювалася тривалість сну між контрольними тваринами, нетолерантними і толерантними до дії ламотриджину.

Результати дослідів наведені в таблиці 7.8. Ламотриджин достовірно знижує тривалість гексеналового сну у нетолерантних тварин на 20%. Цей ефект проявляється ще в більшій мірі у толерантних тварин. У цьому випадку тривалість гексеналового сну відносно нетолерантних тварин знижується в 2 рази і майже в 3 рази відносно контролю.

Зниження тривалості гексеналового сну під впливом ламотриджину особливо сильно виражена у тварин, толерантних до дії ламотриджину, і є опосередкованим показником того, що даний антиконвульсант проявляє властивості індуктора функціональної активності ферментів системи цитохрому Р-450 (табл. 7.8).

Таблиця 7.8

**Вплив ламотриджину на тривалість гексеналового сну (М±m; n=6)**

|  |  |
| --- | --- |
| Серії дослідів | Тривалість сну, хв |
| Гексенал, 100 мг/кг, в/ч (контроль I) | 51,17±0,87 |
| Нетолерантні тварини:  ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч (контроль II) | 40,33±2,17\* |
| Толерантні тварини:  ламотриджин, 30 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч | 18,50±4,05\*◊ |

Примітки: \* – р<0,05 відносно контролю I;

◊ –р<0,05 відносно контролю II.

Отримані результати, наведені у цьому розділі, показують, що у тварин, толерантних до дії ламотриджину, спостерігається підвищення рівня препарату у крові і мозку відносно нетолерантних, що свідчить про кумулятивний ефект. При цьому відзначається певна невідповідність між підвищенням вмісту препарата у тканинах організму (кров, мозок) і його здатністю проявляти властивості індуктора Р-450. Пов’язано це, можливо, з тим, що ламотриджин є селективним субстратом для УДФ- глюкуронозілтрансферази, експресія якого під впливом препарату знижується з одночасною індукцією ізоформи 2С19, вибірковою для барбітуратів, що і проявляється у зниженні тривалості гексеналового сну.

Таким чином, можна припустити, що кумулятивний ефект ламотриджину у толерантних тварин викликає тривалий, тонічний вплив на відповідні рецепторні структури нейронів мозку, що призводить до зниження їх чутливості, тобто десенситизації. У таких умовах спостерігається нівелювання протисудомної активності, вираженої у вигляді толерантності (терапевтичної резистентності). Все це експериментально обґрунтовує недоцільність підвищення дози ламотриджину з метою подолання терапевтичної резистентності.

**7.5 Топірамат**

При дослідженні фармакокінетичних параметрів топіратату встановлена середня біодоступність препарату у тканині мозку. Співвідношення вмісту топірамата кров/мозок при внутрішньочеревному введенні препарату інтактним білим щурам у дозі 300 мг/кг складає 3,5:1 (рис. 19) з рівномірним розподілом у лівій і правій півкулях мозку, відповідно 21,11±2,34 і 19,40±1,84 мкг/г (табл. 7.9).

Достовірних відмінностей у рівні топірамату у крові нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії топірамату не виявлено. При цьому вміст топірамату у крові складав у нетолерантних тварин 72,76±7,74 мкг/мл, у толерантних – 57,43±12,25 (р>0,05). Толерантність до дії топірамату формувалася щоденним, внутрішньочеревним введенням препарату у дозі 300 мг/кг, протягом 14 днів. На 15-й день за 1 год до забору біологічних тканин топірамат вводився у дозі 300 мг/кг.

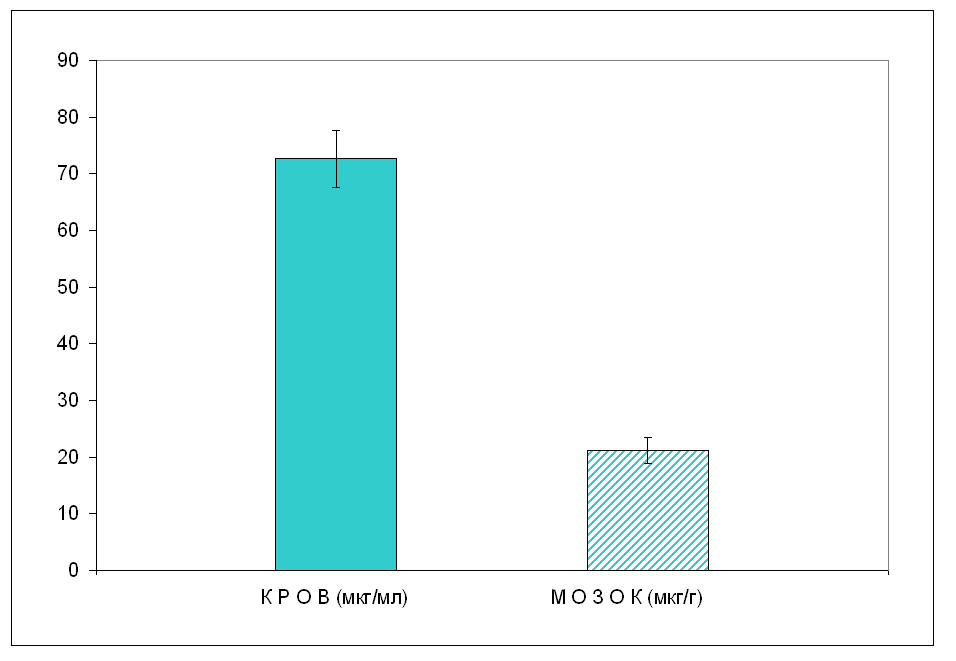


Рис. 19. Співвідношення вмісту топірамата у крові і мозку білих щурів при в/ч введенні препарату у дозі 300 мг/кг, 1 год після введення (n=6)

Співвідношення вмісту топірамата у крові і мозку толерантних тварин скорочувалося по відношенню до нетолерантних з 3,5:1 до 1,5:1, що може свідчити про кумулятивний ефект. Це підтверджується тенденцією до підвищення рівня топірамату у лівій півкулі толерантних тварин на 43% і достовірним зростанням кількості препарату у правій півкулі на 48%. Міжпівкульних відмінностей у вмісті топірамату у лівій і правій півкулях мозку толерантних тварин не виявлено (табл. 7.9).

Таблиця 7.9

**Вплив топірамату в мозку нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії препарату (М±m; n=6)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Серія дослідів | Вміст топірамату, мкг/г | |
| Ліва півкуля | Права півкуля |
| Нетолерантні тварини | 21,11±2,34 | 19,40±1,84 |
| Тварини, толерантні до дії ламотриджину | 37,42±12,99 | 37,61±6,97\* |

Примітка: \* – р<0,05 між нетолерантними і толерантними тваринами.

При вивченні впливу топірамату на тривалість барбітуратного сну у білих мишей було встановлено, що препарат підвищує тривалість гексеналового сну. Топірамат у дозі 300 мг/кг, введений за 1 год до гексеналу (100 мг/кг, в/ч), підвищує тривалість гексеналового сну у нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії препарату, приблизно на 150% (табл. 7.10).

Таблиця 7.10

**Вплив топірамату на тривалість**

**гексеналового сну (М±m; n=6)**

|  |  |
| --- | --- |
| Серії дослідів | Тривалість сну, хв |
| Гексенал, 100 мг/кг, в/ч (контроль I) | 51,17±0,87 |
| Нетолерантні тварини:  топірамат, 300 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч (контроль II) | 132,0±9,81\* |
| Толерантні тварини:  топірамат, 300 мг/кг, в/ч +  гексенал, 100 мг/кг, в/ч | 137,17±3,98\* |

Примітка: \* – р<0,05 відносно контролю I.

Однозначне підвищення тривалості барбітуратного сну слугує опосередкованим доказом того, що топірамат проявляє властивості інгібітора ферментів системи цитохрому Р-450.

Аналіз отриманих результатів показує, що розвиток толерантності до дії протисудомних засобів формується на фоні своєрідних змін фармакокінетичних параметрів досліджуваних антиконвульсантів.

При цьому спостерігається як спільність, так і розбіжності спрямованості цих змін, що, ймовірно, визначається відмінностями хімічної структури досліджуваних антиконвульсантів і нюансами механізмів їх протисудомної дії.

Узагальнена схема фармакокінетичних параметрів досліджуваних протисудомних препаратів у тварин, толерантних до їх дії наведена в табл. 7.11.

З даних наведеної схеми видно односпрямованість змін у крові і мозку толерантних тварин щодо вмісту кожного антиконвульсанта (підвищення у випадку фенобарбітала і ламотриджина та зниження у випадку карбамазепіна і депакіна). Зниження рівня карбамазепіну і депакіну у крові і мозку толерантних тварин добре узгоджується з проявом властивостей індуктора Р-450 у цих препаратів. Підвищення вмісту топірамата у мозку толерантних тварин узгоджується з проявом властивостей інгібітора Р-450.

У той же час фенобарбітал і ламотриджин у толерантних тварин проявляють властивості індуктора Р-450, проте рівень цих антиконвульсантів у крові і мозку не знижується, а підвищується, що можливо пов’язано з ефектом кумуляції цих препаратів.

Таблиця 7.11

**Схематичне узагальнення особливостей фармакокінетичних параметрів антиконвульсантів**

**при формуванні толерантності до їх дії**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Досліджувані препарати | Зміни рівня антиконвульсантів у крові і мозку толерантних тварин | | Вплив на тривалість барбітуратного сну | Прояв властивостей індуктора/інгібітора  Р-450 |
| Кров | Мозок |
| Фенобарбітал | ↑ | ↑ | ↓ | Індуктор |
| Карбамазепін | ↓ | ↓ | ↓ | Індуктор |
| Депакін | ↓ | ↓ | ↓ | Індуктор |
| Ламотриджин | ↑ | ↑ | ↓ | Індуктор |
| Топірамат | 0 | ↑ | ↑ | Інгібітор |

Примітка: ↑ – зміни в сторону зростання показників, ↓ – зміни в сторону зниження показників, 0 – немає змін.

**Висновки до розділу 7**

1. Толерантність до дії антиконвульсантів формується на фоні змін вмісту цих препаратів у крові і мозку тварин.
2. Вміст депакіну і карбамазепіну у крові і мозку толерантних тварин практично не визначається. При цьому обидва препарати, причому це особливо виражено у депакіна, проявляють властивості індукторів Р-450, що пояснює причину зниження рівня препаратів у тканинах мозку і, як наслідок, припинення їх протисудомної дії.
3. Кількість фенобарбіталу і ламотриджину у крові і мозку толерантних тварни зростає і це відбувається, незважаючи на те, що обидва препарати проявляють властивості індуктора Р-450. Отже, у даному випадку мова йде про ефект кумуляції фенобарбіталу і ламотриджину, що не попереджує розвиток толерантності до їх дії.
4. Топірамат проявляє властивості інгібітора Р-450, що може бути причиною підвищення рівня препарату у мозку толерантних тварин.

Публікації в наукових виданнях за результатами експериментальних досліджень, наведеними в даному розділі дисертаційної роботи:

1. Мовчан О.Д. Фармакокінетичні параметри антиконвульсантів у тварин, толерантних до їх протисудомної дії / О.Д. Мовчан // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 4 (29). – С. 27-31.

2. Мовчан О.Д. Фармакокінетичні механізми розвитку толерантності до депакіну та карбамазепіну / О.Д. Мовчан // Клінічна фармація. – 2013. – Т. 17, № 3. – С. 62-65.

3. Мовчан О.Д. Фармакокінетичні параметри формування толерантності до дії антиконвульсантів / О.Д.Мовчан / Загальнотерапевтична практика: нові технології та міждисциплінарні питання: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, 7 листопада 2013 р.: тези доповідей. – Харків, 2013. – С. 213.

**АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ**

Розвиток толерантності до дії ксенобіотиків, до яких, у тому числі, відносяться і лікарські препарати, є природною, захисною реакцією організму і відноситься до розряду загальнобіологічних проблем [28, 180].

У клінічній і експериментальній фармакології розрізняють первинну і вторинну толерантність до дії лікарських засобів, що у медичній практиці визначається як терапевтична резистентність [15, 16].

Первинна резистентність пов’язана з питаннями генетичного поліморфізму генів, відповідних за синтез білків відповідних рецепторів, і трактується в плані фармакогенетики [12, 19, 20, 163]. Вторинна резистентність формується при тривалому застосуванні лікарських препаратів [15, 108, 177, 178, 179]. Більшість неврологічних захворювань характеризується хронічним, прогредієнтним перебігом і тому вимагає тривалого, часто протягом всього життя, застосування нейропсихофармакологічних засобів. До таких захворювань відноситься епілепсія, основним засобом лікування якої є фармакотерапія з використанням антиконвульсантів [73]. Згідно численних клінічних даних первинна терапевтична резистентність до дії протисудомних препаратів реєструється в межах 25-30% випадків лікування епілепсії, що обумовлено, як вказувалося вище, генетичним поліморфізмом [8, 9, 150, 151]. Проте, у зв’язку з тим, що фармакотерапія епілепсії пов’язана з тривалим, інколи протягом років, застосуванням антиконвульсантів, виникають об’єктивні передумови до розвитку вторинної резистентності до дії протисудомних засобів. Тому проблема фармакотерапевтичної резистентності, а отже і ефективності лікування, охоплює всю популяцію хворих на епілепсію. Все це виправдовує необхідність дослідження різних аспектів, пов’язаних з толерантністю до дії антиконвульсантів.

Метою даної роботи було вивчення закономірностей механізмів розвитку толерантності до протисудомної дії антиконвульсантів при їх тривалому введенні та визначення на цій основі шляхів подолання терапевтичної резистентності до даної групи лікарських засобів.

Для дослідження були вибрані базові (фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію) і препарати другої лінії (топірамат, ламотриджин) протисудомні препарати, які постійно й широко застосовуються для лікування епілепсії [85, 86, 117, 118].

Дослідження проведені на білих мишах і білих щурах, яким внутрішньочеревно вводили вказані антиконвульсанти в експериментальних протисудомних дозах: фенобарбітал, 20 мг/кг, карбамазепін, 125 мг/кг, вальпроат натрію, 155 мг/кг, топірамат, 300 мг/кг, ламотриджин, 30 мг/кг [243, 244, 245, 246, 247].

Експериментальні судомні напади моделювалися шляхом введення хемоконвульсантів (коразол, пікротоксин, бікукулін, тіосемікарбазид, стрихнін, каїнова кислота) і використанням максимального електрошоку (МЕШ) [248, 254, 255, 256].

Основним критерієм розвитку толерантності до дії антиконвульсантів слугувало зниження або припинення протисудомної активності препарату при його тривалому введенні [28, 254].

Для вивчення механізмів розвитку толерантності визначалися зміни параметрів фармакодинаміки і фармакокінетики досліджуваних протисудомних препаратів.

Проведені дослідження показали, що при тривалому введенні фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, ламотриджину і топірамату розвивається толерантність до їх протисудомної дії. При цьому встановлені певні закономірності і особливості формування толерантності для кожного антиконвульсанта щодо тривалості їх введення та використаної експериментальної моделі судомних нападів.

Розвиток толерантності на моделі хемоконвульснтних судом спостерігався через 7-14 днів після щоденного введення фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, ламотриджину і топірамату. Причому припинення протисудомної активності фенобарбіталу наступало найшвидше і реєструвалося через 7 діб щоденного введення препарату. Для карбамазепіну, вальпроату натрію і топірамату цей період складав 14 діб.

На моделі електроіндукованих судомних станів (МЕШ) формування толерантності до дії антиконвульсантів спостерігалося при більш тривалому введенні цих препаратів. Для фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію – 21 день, для ламотриджину – 14 днів.

У експериментальній епілептології вважається, що судомні стани, викликані хемоконвульсантами, екстраполюються на відтворення малих клінічних форм епілепсії, тоді як електроіндуковані судомні стани асоціюються з генералізованими формами судомних нападів (grand mal).

У зв’язку з цим отримані нами дані дають підставу зробити заключення про те, що при лікуванні малих форм епілепсії формування терапевтичної резистентності до дії антиконвульсантів настає швидше і це створює додаткові труднощі при лікуванні petit mal. В загальному це положення узгоджується з відповідними даними клінічної епілептології [27, 41].

У клінічній практиці для подолання терапевтичної резистентності розповсюдженим підходом є перехід на комбіновану фармакотерапію епілепсії (з використанням 2-3-хантиконвульсантів) або заміна одного протисудомного препарату на інший [93, 95, 78, 97]. Проте при цьому не враховується можливість формування перехресної толерантності між різними протисудомними препаратами. Перехресна толерантність реєструється, коли не відтворюються фармакологічні ефекти препарату, введеного на тлі сформованої толерантності до іншого препарата, з тієї ж фармакотерапевтичної групи.

На експериментальних моделях хемоконвульсантних судомних станів (коразол, тіосемікарбазид) встановлена пряма і перехресна толерантність між фенобарбіталом, карбамазепіном, вальпроатом натрію і топіраматом. Про це свідчить той факт, що не проявляється протисудомна активність карбамазепіну, вальпроату натрію і топірамату у випадку, якщо вказані препарати вводилися тваринам, у яких попередньо була сформована толерантність до дії фенобарбіталу. Не відтворювалися ефекти фенобарбіталу, вальпроату натрію і топірамату у тварин, толерантних до карбамазепіну. У тварин, толерантних до вальпроату натрію, не проявлялася протисудомна активність фенобарбіталу, карбамазепіну і топірамату. Протисудомний ефект фенобарбіталу, карбамазепіну і вальпроату натрію не відтворювався при їх введенні тваринам, толерантним до дії топірамату.

Разом з тим при використанні моделі електроіндукованих судом (МЕШ) не спостерігалося перехресної толерантності між фенобарбіталом, карбамазепіном і ламотриджином.

Екстраполюючи отримані результати на проблеми клінічної епілептології, можна зробити висновок про те, що і в даному випадку виникають труднощі при лікуванні малих форм епілепсії. Пов’язано це з встановленим феноменом перехресної толерантності між різними антиконвульсантами, що проявляється в першу чергу на моделях хемоконвульсантних судом, які є експериментальною моделлю petit mal. У той же час перехресна толерантність на моделях генералізованих судомних припадків (МЕШ) не реєструється, принаймні між фенобарбіталом, карбамазепіном або ламотриджином.

Для пояснення цього явища можна висунути гіпотетичне припущення, яке пов’язане з тим, що акумулювання антиконвульсантної активності визначалася їх дією на різні ланки генерації і проведення нервового імпульсу. Мова йде про можливість як синаптичного (дендро-аксональною), так і аксонального типу впливу протисудомних засобів. У такому випадку можна припустити, що епілептична клінічна форма petit mal розвивається переважно на синаптичному рівні, а генералізовані судомні напади пов’язані з патоморфологічними і патофізіологічними змінами аксонального проведення нервового імпульсу, що призводить до швидкого розповсюдження судомної активності по транскалозальних, комісуральних і асоціативних зв’язках структур головного мозку.

У кінцевому підсумку це призводить до гіперсинхронізованого епілептогенного «вибуху» у вигляді розгорнутого великого судомного нападу.

На синаптичному рівні антиконвульсанти пригнічують судомну активність шляхів активації ГАМК-ергічної передачі і відновлення співвідношення гальмівних ГАМК-ергічної і гліцинергічної систем мозку зі збуджуючою – глутаматергічною.

Рецепторні процеси сенситизації/десенситизації досить рухливі і їх зміни можуть призводити до ефекту толерантності, а однакова мішень для дії різних антиконвульсантів, переважно ГАМК-ергічна, може визначати формування перехресної толерантності.

Іонні механізми аксонального проведення нервового збудження більш консервативні. Тому на цьому рівні зниження їх чутливості потребує тривалішого впливу протисудомного засобу, а відсутність явища перехресної толерантності обумовлено, ймовірно, селективною дією антиконвульсантів на іонну провідність різних ділянок оболонок нервових провідників.

Очевидно, у клінічній патофізіології епілепсії присутнє порушення вигляду і функції мієлінової оболонки нервових провідників. Про це опосередковано свідчать дані щодо наявності поліморфізму гена MOG-4 у хворих на епілепсію [261]. Враховуючи, що експресія MOG-4 пов’язана з біосинтезом основного білка мієліну, можна припустити наявність дисфункції мієлінової оболонки в нервових провідниках речовини головного мозку у даного контингенту хворих.

У свою чергу дисфункція мієлінової оболонки порушує ізоляцію нервових провідників, що призводить до миттєвого електротонічного розповсюдження судомної активності. На електроенцефалограмі це реєструється у вигляді генералізованих судомних розрядів, що клінічно проявляється великим судомним нападом.

Встановлені форми наявності толерантності і перехресної толерантності при тривалому застосуванні антиконвульсантів піднімають питання про розробку шляхів подолання терапевтичної резистентності і раціонального використання існуючих протисудомних препаратів.

Терапевтичною основою визначення таких підходів можуть бути дослідження, спрямовані на вивчення можливих механізмів формування толерантності. Механізми зниження або припинення протисудомної дії антиконвульсантів, очевидно, пов’язані головним чинам зі змінами у різних ланках синаптичної передачі і/або особливостями фармакокінетики протисудомних засобів, які настають у результаті їх тривалого застосування.

Проведені дослідження показали, що механізми протисудомної дії антиконвульсантів (фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату, ламотриджину) пов’язані з їх впливом на патогенетичні нейромедіаторні ланки епілептогенезу. У першу чергу ГАМК-, глутамат-, гліцин- і серотонінергічної систем мозку. Це підтверджується тим, що досліджені антиконвульсанти у різній мірі вираженості попереджують судомну дію неконкурентних (коразол, пікротоксин) і конкурентних (бікукулін) ГАМК-рецепторів, блокатора синтезу ГАМК – тіосемікарбазиду, антагоніста гліцинових рецепторів – стрихніну і агоніста глутаматних рецепторів – каїнової кислоти, а також нівелюють серотонінергічні ефекти лібератора серотоніну – резерпіну. У тварин, толерантних до дії антиконвульсантів, не проявляється протисудомна дія, головним чином, до ГАМК-ергічних хемоконвульсантів – коразолу, пікротоксину, бікукуліну, тіосемікарбазиду. Ці дані є безперечним доказом участі ГАМК-ергічної системи у формуванні толерантності до дії антиконвульсантів.

Можна припустити, що при тривалому застосуванні антиконвульсантів відбувається постійний, тонічний їх вплив на ГАМК-рецептори. Це призводить до втрати чутливості рецепторів, десенситизація яких припиняє їх здатність генерувати гальмівний постсинаптичний потенціал (ГПСП), в результаті чого протисудомна активність антиконвульсантів не відтворюється, що реєструється у вигляді толерантності, а у клінічному плані – терапевтичної резистентності.

Серотонінергічна система, поряд з ГАМК-ергічною, забезпечує в нейрональних ансамблях головного мозку гальмівну фукцію. Тому активація серотонінергічної системи може бути фактором зниження судомної активності мозку і клініко-електроенцефалографічного припинення судомного нападу.

Ряд антиконвульсантів, наприклад, фенобарбітал і вальпроат натрію, проявляють серотонінергічну дію, яка нівелюється в умовах сформованої толерантності до цих препаратів. Ці дані дають підставу зробити заключення про участь серотонінергічної системи у механізмах розвитку толерантності, зокрема, щодо фенобарбіталу і вальпроату натрію.

Розвиток толерантності до антиконвульсантів при тривалому введенні може бути пов’язаний не тільки зі змінами в нейрохімічних механізмах їх дії, але з особливостями фармакокінетичних параметрів протисудомних препаратів у цих умовах. Зрозуміло, що зміна кількості молекул лікарського препарату в області його дії може бути причиною підвищення або зниження фармакологічної активності. Тому важливим є порівняння рівня антиконвульсантів у крові і мозку нетолерантних тварин і тварин, толерантних до дії протисудомних засобів.

Встановлено, що при формуванні толерантності до дії карбамазепіну і вальпроату натрію, рівень цих препаратів у крові і мозку експериментальних тварин знижується до нуля, що власне пояснює відсутність протисудомної активності, тобто терапевтичної резистентності. Така ситуація можлива при зміні активності ферментів метаболізму лікарських препаратів, у першу чергу, ферментів системи цитохрому Р-450. У наших дослідженнях з використанням опосередкованого показника стану функціональної активності Р-450, а саме тривалості барбітуратного сну, виявлено, що у толерантних тварин карбамазепін і вальпроат натрію проявляють властивості вираженого індуктора Р-450.

Нині вважається досить об’єктивним і прогресивним підхід, коли при тривалому застосуванні лікарського засобу, у тому числі антиконвульсантів, проводиться моніторинг концентраціі застосування препарату. Як показали наші дослідження, при формуванні толерантності, у крові різко знижується вміст карбамазепіну і вальпроату натрію. Здавалося б, що у такій ситуації для подолання терапевтичної резистентності необхідно збільшити дозу даних протисудомних засобів. Проте на фоні толерантності відбувається підвищення індуктивного впливу вальпроату натрію і карбамазепіну на активність ферментів Р-450, що ще в більшій мірі буде підсилювати метаболічну активацію цих препаратів. Ось чому навряд чи буде доцільним підвищення дози карбамазепіну і вальпроату натрію з метою подолання терапевтичної резистентності. Цей висновок підтверджується даними, згідно з якими підвищення дози карбамазепіну та вальпроату натрію на 50% від ефективної у нетолерантних тварин не проявляє протисудомної активності в умовах сформованої толерантності.

Топірамат як у нетолерантних, так і у толерантних тварин проявляє властивості інгібітора Р-450. При розвитку толерантності вміст топірамату зростає у крові і мозку. Тому і в даному випадку невиправданим буде підвищення дози топірамату з метою подолання резистентності, тобто замість очікуваного терапевтичного ефекту можна лише підсилити прояви побічної і токсичної дії препарату.

Припинення протисудомної дії топірамату при його тривалому введенні може бути пов’язане зі збільшенням концентрації топірамату в області синапса і постійного впливу на відповідні рецептори нейронів головного мозку, що є фактором десенситизації, а отже, зниження ГПСП (гальмівного постсинаптичного потенціалу).

При розвитку толерантності до дії фенобарбіталу і ламотриджину, ці препарати проявляють властивості індукторів Р-450. Разом з цим концентрація фенобарбіталу і ламотриджину у крові і мозку зростає, що робить недоцільним підвищення дози фенобарбіталу і ламотриджину з метою подолання терапевтичної резистентності.

Таким чином, на підставі отриманих результатів досліджень можна зробити заключення про те, що при тривалому введенні фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, ламотриджину і топірамату формується толерантність до їх протисудомної дії. Більше того, встановлений факт наявності перехресної толерантності між вказаними антиконвульсантами. При цьому виявлені як загальні закономірності розвитку толерантності відносно всіх досліджуваних антиконвульсантів, так й індивідуальні відмінності в цьому плані для кожного протисудомного препарата. Пов’язано це з особливостями механізмів дії окремих антиконвульсантів і з своєрідністю їх метаболізму, опосередкованого у першу чергу ферментативною системою цитохрому Р-450. Отримані у цьому напрямку дані підтверджують вказані положення і експериментально обґрунтовують практичні рекомендації щодо конкретних підходів подолання терапевтичної резистентності при лікуванні різних клінічних форм епілепсії.

**ВИСНОВКИ**

Робота вирішує теоретичну і практичну задачу лікування резистентних форм епілепсії шляхом встановлення фармакодинамічних і фармакокінетичних ланок механізмів формування толерантності та експериментально обґрунтовує раціональне застосування антиконвульсантів за умов терапевтичної резистентності.

1. Тривале введення фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату та ламотриджину призводить до розвитку толерантності до їх протисудомної дії на моделях хемоконвульсантних та електроіндукованих (МЕШ) судом. Найбільш швидко толерантність формується при використанні хемоконвульсантних моделей судом (коразол, тіосемікарбазид), які асоціюються з petit mal і реєструються через 7 діб при щодобовому введенні фенобарбіталу і 14 діб при введенні карбамазепіну, вальпроату натрію, топірамату. На моделі МЕШ, яка екстраполюється на grand mal, толерантність розвивається при 21-денному введенні фенобарбіталу і карбамазепіну та 14-денному введенні ламотриджину.

2. З використанням хемоконвульсантних моделей судом спостерігається розвиток прямої та зворотної перехресної толерантності між фенобарбіталом, карбамазепіном, вальпроатом натрію та топіраматом. У методиці МЕШ перехресна толерантність не реєструється між фенобарбіталом, карбамазепіном та ламотриджином.

3. При підвищенні доз антиконвульсантів на 50% відносно початкової дози, ефективної у нетолерантних тварин, та введенні в умовах сформованої толерантності, їх протисудомна активність не проявляється.

4. Нейрофармакологічний аналіз із застосуванням селективних аналізаторів (ГАМК-; гліцин-; глутамат- та серотонінергічної) синаптичної передачі, а саме пентилентетразола, пікротоксина, бікукуліна, тіосемікарбазида; стрихніна; каїнової кислоти та резерпіна показав важливу роль змін функціонування ГАМК-ергічної системи у механізмах формування толерантності до дії досліджуваних антиконвульсантів. При введенні пентилентетразолу та пікротоксину судомний синдром реєструється у 100% толерантних тварин, бікукуліну – у 62,5%, тіосемікарбазиду – у 80%.

5. Розвиток толерантності до дії антиконвульсантів при їх тривалому введенні формується на тлі суттєвих змін вмісту досліджуваних препаратів у крові та тканинах головного мозку. Карбамазепін і вальпроат натрію у толерантних тварин практично не визначається. Кількість інших антиконвульсантів зростає: фенобарбіталу на 57% у крові і на 49% у мозку, ламотриджину на 12% у крові і на 30% у мозку та топірамату на 46% у мозку.

6. Фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію та ламотриджин знижують на 56,2%, 23,9%, 35,3%, 54,1%, відповідно, а топірамат збільшує на 3,9% тривалість барбітуратного сну у тварин, толерантних до дії вказаних антиконвульсантів. Ці дані опосередковано свідчать про те, що фенобарбітал, карбамазепін, вальпроат натрію та ламотриджин у толерантних тварин проявляють властивості індукторів, а топірамат – інгібітора ферментів системи цитохрому Р-450.

7. Особливості та певні закономірності розвитку толерантності до дії протисудомних засобів визначаються як загальними, так і специфічними для кожного антиконвульсанта фармакодинамічними та фармакокінетичними механізмами формування терапевтичної резистентності, що повинно враховуватися у тактиці підходів лікування фармакорезистентної епілепсії.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Мар’єнко Л.Б. Про сучасний стан класифікації епілептичних нападів та епілепсії / Л.Б. Мар’єнко // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. – 2013. – № 2. – С. 130-136.

2. Мартинюк В.Ю. Епілепсія в сучасному суспільстві: від якісної медичної допомоги до соціальної адаптації / В.Ю. Мартинюк, С.М. Харчук, А.Є. Дубенко [та ін.] // Здоров’я України. – 2015. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://health-ua.com/stati/neurology/epilepsiya-v-suchasnomu-suspilstvi-vid-yakisnoyi-medichnoyi-dopomogi-do-sotsialnoyi-adaptatsiyi.html

3. Опрышко В.И. Исследование взаимодействия карбамазепина и тиотриазолина на модели фармакорезистентной эпилепсии / В.И. Опрышко // Запорожский медицинский журнал. – 2008. – № 4 (49). – С. 31-35.

4. French J.A. Refractory epilepsy: clinical overview / J.A. French // Epilepsia. – 2007. – V. 48 (Suppl 1). – P. 3-7.

# 5. Moshé S.L. Epilepsy: new advances / [S.L. Moshé](javascript:void(0);), [E. Perucca](javascript:void(0);), [P. Ryvlin](javascript:void(0);) [et al.] // The Lancet. – 2015. – V. 385, № 9971. – P. 884-898.

# 6. Sirven J.I. Evaluation and management of drug-resistant epilepsy / J.I. Sirven // UpToDate. – 2016. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.uptodate.com/contents/evaluation-and-management-of-drug-resistant-epilepsy

7. Wilne A. Modern Treatment of Drug-Resistant Epilepsy **/** A. Wilne // Neurology Reviews. – 2015. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.neurologyreviews.com/home/article/modern-treatment-of-drug-resistant-epilepsy/59210366894c4275fa43fed6d77c2bc1.html>

8. Карлов В.А. Фармакорезистентность и толерантность при эпилепсии / В.А. Карлов // Журнал неврологии и психиатрии. – 2008. – № 10. – С. 75-80.

9. [Bodalia P.N](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bodalia%20PN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23351090). Comparative efficacy and tolerability of anti-epileptic drugs for refractory focal epilepsy: systematic review and network meta-analysis reveals the need for long term comparator trials / P.N. Bodalia, A.M. [Grosso](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Grosso%20AM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23351090), R. [Sofat](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sofat%20R%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23351090)   [et al.] // [Br J Clin Pharmacol.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23351090) – 2013. – V. 76, № 5. – P. 649-667.

# 10. Swanborough N. Medication for epilepsy / N. Swanborough // Epilepsy society. – 2015. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.epilepsysociety.org.uk/medication-epilepsy>

# 11. Эпилепсия. Информационный бюллетень, № 999. – ВОЗ, 2016. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://медулица.рф/>news/voz/ epilepsiya.-informacionnyy-byulleten-999-fevral-2016/

12. Карлов В.А. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин: Руководство для врачей / В.А. Карлов. – М.: ОАО «Медицина», 2010. – 720 с.

13. Орос М.М. Можливості та перспективи фармакогенетики в лікуванні епілепсії / М.М Орос, В.І. Смоланка // Міжнародний неврологічний журнал. – 2012. – № 6. – С. 119-126. – Режим доступу: <http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Mnzh_2012_6_17.pdf>

14. Löscher W. Drug resistance in epilepsy: Why is a simple explanation not enough? / W. Löscher, G.J. Sills // Epilepsia. –2007. – V. 48. – Р. 2370-2372.

15. Громов Л.А. Общие и частные проблемы терапевтической резистентности / Л.А. Громов // Рациональная фармакотерапия. – 2011. – № 2. – С. 13-17.

16. Балашов А.М. К вопросу о резистентности к фармакотерапии / А.М. Балашов // Журнал неврологии и психиатрии. – 2009. – № 1. – С. 90-91.

17. Дубенко А.Є. Деякі фармакогенетичні аспекти лікування хворих на епілепсію / А.Є. Дубенко, М.М. Орос, В.І. Смоланка // Здоров’я України. –2013. – № 12. – С. 22-24.

# 18. **Cohen** N. Pharmacogenomics and Personalized Medicine / N. **Cohen.** – Humana Press, 2010. – 528 p.

19. Liao G. A genomic “roadmap” to “better” drugs / G. Liao, X. Zhang, D.J. Clark [et al.] // Drug Metab Rev. – 2008. – V. 40, № 2. – P. 225-239.

20. Pandolfo M. Genetics of epilepsy / М. Pandolfo // Semin Neurol. - 2011. – V. 31 (5). – Р. 506-518.

21. Siddiqui A. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transpor-ter gene ABCB1 / А. Siddiqui, R. Kerb., M.E. Weale [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2011. – V. 348, № 15. – P. 1442-1448.

# 22. Tao H. Role of glyoxalase I gene polymorphisms in late-onset epilepsy and drug-resistant epilepsy / H. Tao, L. Si, X. Zhou [et al.] // Journal of the Neurological Sciences. – 2016. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.jns-journal.com/article/S0022-510X%2816%2930052-1/abstract>

23. Литовченко Т.А. Резистентные эпилепсии: причины и методы лечения / Т.А. Литовченко // НейроNews. – 2010. – № 6. – С.21-26.

24. Рудакова И.Г. Фармакорезистентная эпилепсия поддается лечению / И.Г. Рудакова, Ю.А. Белова, А.С. Котов // Вестник эпилептологии. – 2013. – № 1. – С. 3-7.

25. Rogawski M.A. Intrinsic severity as a determinant of antiepileptic drug refractoriness / M.A. Rogawski, M.R. Johnson // Epilepsy Currents. – 2008. – V. 8. – Р. 127-130.

26. Конспект невролога. Часть 5: Эпилепсия / Редакторы-составители А.Ю. Заславский, Н.В. Куприненко. – Донецк: Издатель Заславский А.Ю., 2010. – 64 с.

27. Зенков Л.Р. Клиническая эпилептология (с элементами нейрофизиологии): Руководство для врачей / Л.Р. Зенков. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2010. – 408 с.

28. Pocock N. Evidence for tolerance to antiepileptic drugs / N. Pocock // Epilepsia. – 2006. – V. 47, № 10. – Р. 1253-1284.

# 29. Ochoa J.G. Antiepileptic Drugs / J.G. Ochoa // Medscape. – 2015. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://emedicine.medscape.com> /article/1187334-overview

30. Fisher R.S. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE) / R.S. Fisher, van E. Boas, W. Blume [et al.] // Epilepsia. – 2005. – V. 46, № 4. – P.470-472.

31. Brodie M.J. Fast facts: epilepsy / M.J. Brodie, S.C. Schachter, P. Kwan. – Oxford: Health Press, 2009. – 30 р.

32. Shorvon S.D. The treatment of epilepsy / S.D. Shorvon. – Oxford: Blackwell Publishers, 2009. – 966 р.

33. Мар’єнко Л.Б. Підсумки 9-го Європейського конгресу з епілептології (27 червня – 1 липня 2010 року, Греція, о. Родос) / Л.Б. Мар’єнко, В.І. Харитонов, С.К. Євтушенко. – 2010. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу:

[http://www.mif-ua.com/archive/article/15008](http://www.mif-ua.com/archive/article/15008 )

# 34. Alexopoulos A.V. Pharmacoresistant epilepsy: Definition and explanation / A.V. Alexopoulos // Epileptology. – 2013. – V. 1, № 1. – P. 38-42.

35. Калинин В.В. Противосудорожные и психотропные свойства антиэпилептических препаратов при лечении больных эилепсией / В.В. Калинин, Е.В. Железнова. – М.: Артинфо паблишинг, 2008. – 235 с.

36. Броди М. Течение и рациональная терапия эпилепсии / М. Броди // Междунар. неврол.журн. – 2005. – № 4. – С. 72-83.

37. Авакян Г. Ламотриджин в лечении эпилепсии у женщин / Г. Авакян // Врач. – 2007. – № 5. – С. 44-46.

38. Литовченко Т.А. Эпилепсия: терминология, эпидемиология, классификация, этиология, патогенез / Т.А. Литовченко // Нейроnews. – 2010. – № 2 (21). – [Електронний ресурс]. –Режим доступу: <http://neuronews>. com.ua/page/epilepsiya-terminologiya-epidemiologiya-klassifikaciya-etiologiya-patogenez

39. Харчук С.М. Рациональная фармакотерапия эпилепсии: традиционные и новые подходы к преодолению старых проблем / С.М. Харчук // Здоров’я України. – 2007. – № 11/1. – С. 16-17.

40. Hirose G.An overview of epilepsy: its history, classification, pathophysiology and Management / G. Hirose// Brain Nerve. – 2013. – V. 65, № 5. – P. 509-520.

41. Карлов В.А. Эпилепсия / В.А. Карлов. – М.: Медицина, 1990. – 336 с.

42. Gastaut H. Clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures / H. Gastaut // Epilepsia. – 1970. – V. 11, № 1. – P.102-113.

43. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electrographic classification of epileptic seizures // Epilepsia. – 1981. – V. 22. – P. 489-501.

44. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes // Epilepsia. – 1989. – V. 30. – P. 389-399.

45. Panayiotopoulos C.P. The epilepsies: seizures, syndromes and management / C.P. Panayiotopoulos. – Oxfordshire: Bladon Medical Publishing, 2005. – 541 p.

46. Гехт А.Б. Постинсультная эпилепсия / А.Б. Гехт, Л.Б. Тлапшокова, А.В. Лебедева // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2000. – Т. 100, № 9. – С. 67-70.

47. Карпова М.Н. Влияние ишемии мозга различной тяжести на острые судороги и хронический эпилептогенез / М.Н. Карпова, И.Ю. Абросимов, Г.Н. Крыжановский // Бюлл. эксперим. биологии и медицны. – 1998. – Т. 126, № 7. – С. 30-33.

48. Мельник В.С. Епілепсія та епілептичні синдроми / В.С. Мельник // Український неврологічний журнал. – 2012. – № 4. – С. 27-32.

49. Мищенко Т.С. Стандарты диагностики и лечения эпилепсии у взрослых / Т.С. Мищенко, А.Е. Дубенко, Т.А. Литовченко [и др.] // НейроNews. Психоневрология и нейропсихиатрия. – 2008. – № 4 (09). – С. 59-63.

50. Mohanraj R. Outcomes of newly diagnosed idiopathic generalized epilepsy syndromes in a non–pediatric setting / R. Mohanraj, M.J. Brodie // Acta Neurol Scand. – 2007. – № 115 (3). – С. 204-208.

51. Бурд Г.С. Международная классификация эпилепсии и основные направления ее лечения / Г.С. Бурд // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 1995. – Т. 95, № 3. – С. 4-12.

52. Уніфікований клінічний протокол первинної, екстреної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Епілепсії у дорослих. Наказ Міністерства охорони здоров’я України від 17.04.2014 р. № 276 "Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при епілепсіях" – [Електронний ресурс]. – Режим доступу <http://moz.gov.ua/> docfiles/dod276\_ukp\_2014.pdf

53. Miller J.W. Are generalized tonic-clonic seizures really «generalized»? / J.W. Miller// Epilepsy Curr. – 2010. – V. 10. – P. 80-81.

54. Berg A.T. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009 / A.T. Berg, S.F. Berkovic, M.J. Brodie [et al.] // Epilepsia. – 2010. – V. 51, № 4. – P. 676-685.

55. Berg A.T. The 2010 Revised Classification of Seizures and Epilepsy / A.T. Berg, J.J. Millichap // Continuum (Minneap Minn). – 2013. – V. 19, № 3. – Р. 571-597.

56. Мар’єнко Л.Б. Терапевтичний патоморфоз уперше діагностованої симптоматичної та криптогенної епілепсії / Л.Б. Мар’єнко // Межд. неврол. журнал. – 2012. – № 6 (52). – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http:// [www.mif-ua.com/archive/article/34844](http://www.mif-ua.com/archive/article/34844)

57. Матвієнко Ю. Антиконвульсанти / Ю. Матвієнко // Медицина світу. – 2012. – Т. XXXIII, № 5. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://msvitu.com/archive/2012/november/article-1.php

58. Шастун Н.П. Сравнительная оценка влияния антиконвульсантов различных групп на когнитивные процессы в норме, морфофункциональные характеристики нейронов сенсомоторной коры и нейроапоптоз в условиях коразолового киндлинга / Н.П. Шастун, В.И. Опрышко, С.В. Павлов [и др.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 3 (44). – С. 40-48.

59. Карлов В.А. Стратегия и тактика терапии эпилепсии сегодня / В.А. Карлов // Журн. неврол. и психиат. им. С.С. Корсакова. – 2004. – Т. 104, № 8. – С.28-34.

60. Ушкалова А. В. Влияние противосудорожных препаратов на когнитивные и поведенческие функции / А. В. Ушкалова, Е. А. Ушкалова // Фарматека. – 2009. – № 7. – С. 13-18.

61. Бурчинский С.Г. Комбинированная фармакотерапия эпилепсии и проблема выбора антиконвульсантов / С.Г. Бурчинский // Здоров’я України. – 2009. – № 5/1 – С. 27-28.

62. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http: [www.medal.org/ visitor /www/ch17/ch17.22/ch17](http://www.medal.org/%20visitor%20/www/ch17/ch17.22/ch17).22.14.aspx

63. Loddenkemper Т. A proposal for a five-dimensional patient oriented epilepsy classification / T. Loddenkemper, C. Kellinghaus, E. Wyllie [et al.] // Epileptic Disorders. – 2005. – V. 7, № 4. – P. 308-316.

64. The Treatment of Epilepsy, 4th Edition / Edited by S. D. Shorvon, E. Perucca, J. Engel // Wiley-Blackwell. – 2015. – 1072 р.

# 65. [King M.A](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=King%20MA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=9759742). Epileptology of the first-seizure presentation: a clinical, electroencephalographic, and magnetic resonance imaging study of 300 consecutive patients / M.A. [King](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=King%20MA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=9759742), M.R. [Newton](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Newton%20MR%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=9759742), G.D. [Jackson](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Jackson%20GD%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=9759742) [et al.] // Lancet. – 1998. – V. 352, № 9133. – P. 1007-1011.

66. Громов Л.А. Рациональная фармакотерапия / Л.А. Громов / Рациональная фармакотерапия. – 2012. – № 1 (22). – С. 13-15.

67. [Pohlmann-Eden B](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Pohlmann-Eden%20B%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18184150). First seizure: EEG and neuroimaging following an epileptic seizure **//** B.[Pohlmann-Eden](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Pohlmann-Eden%20B%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18184150), M. [Newton](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Newton%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18184150) // [Epilepsia.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18184150) – 2008. – V. 49 (Suppl 1). – P. 19-25.

68. Меликян Э.Г. Качество жизни в эпилептологии / Э.Г. Меликян, Л.Е. Мильчакова, А.Б. Гехт [и др.] // Журнал неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2008. – № 3. – С. 28-35.

69. The WHOQOL Group. The World Health Organization Quality of Life assessment (WHOQOL): position paper from the World Health Organization // Soc. Sci. Med. – 1995. – V. 41. – P. 1403-1409.

70. Бурчинский С.Г. Выбор антиконвульсанта в стратегии монотерапии эпилепсии / С.Г. Бурчинский // Междун. неврологический журнал. – 2011. – № 2 (40). – С. 78-82.

71. NICE clinical guideline 137 – The Epilepsies: The diagnosis and management of the epilepsies in adults and children in primary and secondary care (Епілепсії: діагностика та лікування епілепсій у дорослих та дітей при наданні первинної та вторинної медичної допомоги), 2012.

72. Калинин В.В. Депакин: история и перспективы применения в психоневрологической практике / В.В. Калинин // Вісник епілептології. – 2010. – № 1 (31-32). – С. 31-40.

73. Трикаш І.О. Пресинаптична дія судомних та протисудомних препаратів на безклітинній моделі нейросекреції / І.О. Трикаш, В.П. Гуменюк, Л.О. Громов [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 4а (додаток 1). – С. 89.

74.[Hermann S](mailto:hermann.stefan@uk-erlangen.de). 20th Annual Meeting of the German-Austrian-Swiss Epilepsy Working Group / S. Hermann // Journal of Epileptology. – 2014. – V. 22, № 2. – P. 123-125.

75. Engel J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on classification and terminology / J. Engel // Epilepsia. – 2001. – V. 42, № 6. – P. 796-803.

76. Харкевич Д.А. Фармакология / Д.А. Харкевич. – М.: Издательский дом Гэотар-мед, 2010. – 750 с.

77. Дубенко А.Е. Эпилепсия у взрослых (диагностика и лечение). Клинические рекомендации / А.Е. Дубенко, Т.А. Литовченко, Л.Б. Марьенко [и др.] // Новости медицины и фармации (неврология и психиатрия). – 2007. – № 215. – С. 14-15.

78. Сойко В.В. Проблема фармакорезистентности в комплексной терапии эпилепсии / В.В. Сойко, А.И. Мирошниченко // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2010. – Т. 14, № 4 (53). – С. 36-39.

79. Jannuzzi G. On behalf of The Italian TDM Study Group in Epilepsy. A multicenter randomized controlled trial on the clinical impact of therapeutic drug monitoring in patients with newly diagnosed epilepsy / G Jannuzzi, P. Cian, C. Fattore [et al.] // Epilepsia. – 2000. – V. 41, № 2. – P. 222-230.

80. ILAE Treatment Guidelines: Evidence-based Analysis of Antiepileptic Drug Efficacy and Effectiveness as Initial Monotherapy for Epileptic Seizures and Syndromes // Epilepsia. – 2006. – V. 47, № 7. – Р. 1094-1120.

81. Андрианова Е. Руководство по диагностике и лечению эпилепсий у детей и взрослых. NICE, 2012 / Е. Андрианова. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://neuronews.com.ua/page/rukovodstvo-po-diagnostike-i-lecheniyu-epilepsij-u-detej-i-vzroslyh>

82. Марценковский И.А. Лечение эпилепсии / И.А. Марценковский // Здоров’я України. – 2004. – № 8. – С. 38-39.

83. Киссин М.Я. Клиническая эпилептология / М.Я. Киссин. – М.: Гэотар-Медиа, 2009. – 256 с.

84. Мартынюк В.Ю. Стартовая терапия эпилепсии у детей: игра в рулетку или осознанный выбор первого препарата? / В.Ю. Мартынюк, А.С. Петрухин, Д. Чавдаров [и др.] // Здоров’я України. – 2008. – № 4. – С. 9-11.

85. Bernard S. Epilepsy / S. Bernard, C. Lowenstein, D.H. Lowenstein // N. Engl. J. Med. – 2003. – V. 349. – P. 1257-1266.

86. Gőren M.Z. Ethosuximide: from bench to bedside / M.Z. Gőren, F. Onat // CNS Drugs. Rev. – 2007. – Vol. 13, № 2. – P. 224-239.

87. Shorvon S.D. Drug treatment of epilepsy in the century of the ILAE: thesecond 50 years / S.D. Shorvon // Epilepsia. – 2009. – V. 50, № 3. – P. 93-130.

88. Матвієнко Ю. Нові антиконвульсанти в педіатричній епілептології / Ю. Матвієнко // Медицина світу. – 2014. – № 5. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://msvitu.com/archive/2014/may/article-3.php>

89. Громов Л.О. Фармакокінетичний профіль сучасних протиепілептичних препаратів / Л.О. Громов, О.О. Ярош // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 4 (5). – С. 22-29.

90. Литовченко Т.А. Эпилепсия: современное решение проблемы / Т.А. Литовченко // Нейроnews. – 2006. – № 1 (1). – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.health-ua.org/archives/neuro/4.html

91. Aldenkamp A. Role of valproate across the ages. Treatment of epilepsy in children / А. Aldenkamp, F. Vigevano, A. Arzimanoglou [et al.] // Acta Neurol Scand 2006. – V. 114 (Suppl. 184). – Р. 1-13.

92. Wheless J.W. Treatment of pediatric epilepsy: European expert opinion, 2007 / J.W. Wheless, D.F. Clarke, A. Arzimanoglou [et al.] // Epileptic Disord. – 2007. – V. 9. – P. 353-412.

93. Smith M. Discovery of antiepileptic drugs / M. Smith, K.S. Wilcox, H. S. White // Neurotherapeutics. – 2007. – V. 4, № 1. – P. 12-17.

94. Stefan H. Novel anticonvulsant drugs / H. Stefan, T.J. Feuerstein // Pharmacol. Ther. – 2007. – V. 113. – P. 165-183.

95. Бурчинский С.Г. Возможности антиконвульсантов нового поколения в фармакотерапии эпилепсии / С.Г. Бурчинский // Укр. вісн. психоневрол. – 2008. – Т. 16, № 2 (55). – С. 5-9.

96. Guerreiro С. Guidelines for drug treatment of epilepsy. A critical review / С. Guerreiro // Arq. Neuropsiquiatr. – 2008. – V. 66 (3-A). – P. 591-599.

97. McNamara J.O. Pharmacotherapy of the epilepsies In: The Pharmacological Basis of Therapeutics. Eds. Brunton L.L., Lazo J.S., Parker K.L, Goodman and Gilman’s 11th edition. – McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York, 2006. – P. 501-526.

98. Kwan P. Early identification of refractory epilepsy / P. Kwan, M.J. Brodie // N Engl J. Med. – 2000. – V. 342. – P. 314-319.

99. Schmidt D. New developments in antiepileptic drug resistance: an integrative view / D. Schmidt, W. Löscher // Epilepsy Currents. – 2009. – V. 9, № 2. – P. 47-52.

100. Armijo J.A. Rational combination therapy in epilepsy. II. Clinical and pharmacological aspects / J.A. Armijo, J.L. Herranz // Rev Neurol. – 2007. – V. 45. – Р. 16.

101. Trevino-Peinado C. Response to antiepileptic drug combination in persons with drug-resistant epilepsy and relationship to the added drug when monotherapy is not enough / C. Trevino-Peinado, M. Trzeciak, N. Barriobero [et al.] // Epilepsia. Special Issue: 11th European Congress on Epileptology, Stockholm, Sweden, 29th June – 3rd July, 2014. – 2014. – V. 55, № 2. – P. 4-6.

102. Patsalos P.N. Antiepileptic drugs-best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies / P.N. Patsalos, D.J. Berry, B.F. Bourgeois [et al.] // Epilepsia. – 2008. – V. 49, № 7. – P. 1239-1276.

103. Perucca E. The clinical pharmacokinetics of the new antiepileptic drugs / E. Perucca // Epilepsia. – 1999. – V. 40. – P. 7-13.

104. Громов С.А. Совершенствование фармакотерапии эпилепсии с различной степенью резистентности к лекарственному лечению / С.А. Громов, Д.П. Смирнов // Неврол. журнал. – 2008. – Т. 3, № 2. – С. 26-28.

105. Мартинюк В.Ю. Лікування епілепсії, епілептичних синдромів у дітей. Методичні рекомендації / В.Ю. Мартинюк. С.К. Євтушенко, Т.В. Коноплянко [та ін.] // Київ, 2012. – 18 с.

106. Weiss S.R. Contingent tolerance to the anticonvulsant effects of carbamazepine: relationship to loss of endogenous adaptive mechanisms / S.R. Weiss, M. Clark, J.B. Rosen [et al.] // Brain Res Rev. – 1995. – V. 20. – P. 305-325.

107. Azar N.J. Transient improvement after brief antiepileptic drug withdrawal in the epilepsy monitoring unit – possible relationship to AED tolerance / N.J. Azar, A.H. Lagrange, L. Wang [et al.] // Epilepsia. – 2010. – V. 51, № 5. – P. 811-817.

108. Чекман І.С. Фармакологія / І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, Л.І. Казак [та ін.]. – Вінниця: Нова Книга, 2011. – 784 с.

109. Lasoñ W. Basic mechanisms of antiepileptic drugs and their pharmacokinetic/pharmacodynamic interactions: an update / W. Lasoñ, М. Dudra-Jastrzêbska, К. Rejdak [et al.] // Pharmacological Reports. – 2011. – V. 63. – С. 271-292.

110. Duncan J.S. Adult epilepsy / J.S. Duncan, J.W. Sander, S.M. Sisodiya [et al.] // Lancet. – 2006. – V. 367. – P. 1087-1100.

111. Marson A.G. Interpreting regulatory trials in epilepsy / A.G. Marson, P.R. Williamson // Curr Opin Neurol. – 2009. – V. 22. – Р.167-173.

112. Bialer M. Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the Eighth Eilat Conference (EILAT VIII) / М. Bialer, S.I. Johannessen, H.J. Kupferberg [et al.] // Epilepsy Res. – 2007. – V. 73. – Р. 1-52.

113. Brodie M.J., DeBoer H.M., Joannessen S.I. (editors) European Declaration on Epilepsy October 25, 1998 / In: European White Paper on Epilepsy // Epilepsia. – 2003. – V. 44 (Suppl. 6). – P. 2-3.

114. Юрьев К.Л. Новейшие – третього поколения – противоэпилептические препараты / К.Л. Юрьев // Укр. мед. часопис. – 2012. – № 4 (90). – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://www.umj.com.ua/ article/32172/novejshie-tretego-pokoleniya-protivoepilepticheskie-preparaty](http://www.umj.com.ua/%20article/32172/novejshie-tretego-pokoleniya-protivoepilepticheskie-preparaty)

**115. Luszczki J.J.** Third-generation antiepileptic drugs: mechanisms of action, pharmacokinetics and interactions / **J.J. Luszczki** // Pharmacol. Rep. – 2009. – V. 61, № 2. – P. 197-216.

116. Компендиум – 2014 – лекарственные препараты / В.Н. Коваленко (ред.). – К.: Моріон, 2014. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://compendium.com.ua/cd_version>

117. Дубенко А.Е. Перспективы применения окскарбазепина в клинической практике врача-эпилептолога / А.Е. Дубенко, О.А. Васильева // Нейроnews. – 2011. – № 4 (2). – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://neuronews.com.ua/page/no-4-2-24

118. Довідник лікарських засобів, зареєстрованих в Україні станом на 21.01.2015. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://drugbox.co/ 08cf2dcb](http://drugbox.co/%2008cf2dcb)

119. Ashton H. GABA-Ergic Drugs: Exit Stage Left, Enter Stage / H. Ashton, H. Young // Right Journal of Psychopharmacology. – 2003. – V. 17, № 2. – P. 174-178.

120. Rho J.M. The pharmacological basis of antiepileptic drug action / J.M. Rho, R. Sankar // Epilepsia. – 1999. – V. 40, № 11. – P. 1471-1483.

121. Дроговоз С.М. Фармакология на ладонях / С.М. Дроговоз. – Харьков, 2007. – 110 с.

122. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2005. – 1164 с.

123. Landmark C.J. Targets for antiepileptic drugs in the synapse / C.J. Landmark // Med. Sci. Monit. – 2007. – V. 13, № 1. – P. 1-7.

124. White H.S. Mechanism of action of antiepileptic drugs / H.S. White, M.D. Smith, K.S. Wilcox // Int Rev Neurobiol. – 2007. – V. 81. – P. 85-110.

125. Lingamaneni R. Differential interaction of anaesthetics and antiepileptic drugs with neuronal Na+ channels, Ca2+ channels, and GABAA receptors / R. Lingamaneni, H. Hemmings // Br.J. Anaesth. – 2003. – V. 90. – P. 199-211.

126. Welsh J.P. The serotonin hypothesis of myoclonus from the perspective of neuronal rhythmicity / J.P. Welsh, D.G. Placantonakis, S.I. Warsetsky [et al.] // Adv. Neurol. – 2002. – V. 89. – P. 307-329.

127. Okubo Y. Imaging extrasynaptic glutamate dynamics in the brain / Y. Okubo, H. Sekiya, S. Namiki // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2010. – V. 107, № 14. – P. 6526-6532.

128. Moloney M.G. Excitatory amino acids / M.G. Moloney // [Nat Prod Rep.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12430725) – 2002. – V. 9, № 5. – P. 597-616.

129. Беленичев И.Ф. Современные подходы к терапии острого нарушения мозгового кровообращения, основные стратегии нейропротекции / И.Ф. Беленичев, Н.В. Бухтиярова, Д.А. Середа // Новости мед. и фармации. – 2008. – № 5 (237). – С. 21-24.

130. Ohman I. Lamotrigine in pregnancy: pharmacokinetics during delivery, in the neonate, and during lactation / I. Ohman, S. Vitols, T. Tomson // Epilepsia. – 2000. – V. 41. – P. 709-713.

131. [Meldrum B.S](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Meldrum%20BS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=10736372).Glutamate as a neurotransmitterin the brain: review of physiology and pathology / B.S. Meldrum // [J Nutr.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10736372) – 2000. – V. 130 (4S Suppl). – P. 1007-1015.

132. Семьянов А.В. ГАМКергическое торможение в ЦНС: типы ГАМК рецепторов и механизмы тонического ГАМК-опосредованного тормозного действия / А.В. Семьянов // Нейрофизиология. – 2002. – Т. 34, № 1. – С. 82-95.

133. Calabresi P. Is Pharmacological Neuroprotection Dependent on Reduced Glutamate Release? / P. Calabresi, P. Picconi, E. Saulle [et al.] // Stroke. – 2000. – V. 31. – P. 766-773.

134. Costa L.G. Structural effects and neurofunctional seguelae of developmental exposure to psychotherapeutic drugs: experimental and clinical aspects / L.G. Costa, L. Steardo, V. Cuomo // Pharm. Rev. – 2004. – V. 56, № 1. – P. 103-147.

135. Ghodke-Puranic Y. Valproic acid pathway: pharmacokinetics and pharmacodynamics / Y. Ghodke-Puranic, C.F. Thorn, J.K. Lamba [et al.] // Pharmacogenetics and genomics. – 2013. – V. 23, № 4. – P. 236-241.

136. Al-Shammary Shoaa F. A Clinical Overview of the New Antiepileptic Drugs / Shoaa F. Al-Shammary // Bahrain Medical Bulletin. – 2006. – V. 28, №. 3. – Р. 1-7.

137. Mathews G.C. The dual roles of GABA in seizures and epilepsy generate more excitement / G.C. Mathews // Epilepsy Curr. – 2007. – V. 7. – P. 28-30.

138. Kuzniecky R. Modulation of cerebral GABA by topiramate, lamotrigine and gabapentin healthy adults / R. Kuzniecky, S. Ho, J. Pan [et al.] // Neurology. – 2002. – V. 58. № 3. – P. 368-372.

139. Зозуля Ю.А. Роль оксида азота в эпилептогенезе (обзор литературы) / Ю.А. Зозуля, О.А. Лапоногов, Л.Н. Сенько // Журн. АМН Украины. – 2007. – Т. 13, № 2. – С. 201-215.

140. Choi D.W. Nitric oxide: toe or friend of injured brain? / D.W. Choi // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1993. – V. 90. – P. 9741-9743.

141. Громов Л.А. Действие антиконвульсантов на систему оксида азота **/** Л.А. Громов, И.Ф. Беленичев, Л.Г. Гончар-Чердакли, Г.А. Жерновая // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 1. – С. 79-83.

142. Meldrum B.S. Molecular targets for antiepileptic drug development / B.S. Meldrum, M.A. Rogawski // Neurotherapeutics. – 2007. – V. 4. – P. 18-61.

143. Cole A.J. Is epilepsy progressive disease? The neurobiological consequences epilepsy / A.J. Cole // Epilepsia. – 2000. – V. 41 (Suppl. 2.) – P. 13-22.

144. Zona C. Neocortical potassium currents are enhanced by the antiepileptic drug lamotrigine / C. Zona, V. Tancredi, P. Longone [et al.] // Epilepsia. – 2002. – V. 43, № 7. – P. 685-690.

145. Рудакова И.Г. Леветирацетам (кеппра) в лечении различных эпилептических синдромов у взрослых / И.Г. Рудакова, А.С. Котов, С.В. Котов [и др. ] // Журнал неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. – 2009. – Т. 109, № 10. – С. 25-29.

146. Marson A.G. The SANAD study of effectiveness of valproate, lamotrigine, or topiramate for generalized and unclassifiable epilepsy: an unblended randomized controlled trial / A.G. Marson, A.M. Al-Kharusi, M. Alwaidh [et al.] // Lancet – 2007. – V. 369. – P. 1016-1026.

147. Lynch B.A. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam / B.A. Lynch, N. Lambeng, K. Nocka [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. – V. 101, № 26. – Р. 9861-9866.

148. Литовченко Т.А.  Современные принципы фармакотерапии эпилепсии / Т.А. Литовченко // НейроNews. – 2010. – № 5. – С.42-48.

149. Potschka H. Pharmacological treatment strategies: Mechanisms of antiepileptic drugs / H. Potschka // Epileptology. – 2013. – V.1, № 1. – P. 31-37.

150. Mann M.W. Drug resistance in partial epilepsy: Epidemiology, mechanisms, pharmacogenetics and therapeutical aspects / M.W. Mann, G. Pons // Neurochirurgie. – 2008. – V. 54. – Р. 259-264.

# 151. Swanborough N. Better treatment for drug resistant epilepsy / N. Swanborough // Epilepsy society. – 2015. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.epilepsysociety.org.uk/drug-resistant-epilepsy-better-treatment-05-09-2015

152. Омельяненко А.А. Інформація про Міжнародний симпозіум «Резистентні форми епілепсій та епілептичні енцефалопатії у дітей» (м. Донецьк) / А.А. Омельяненко // Медичний портал MedicLab. – 2012. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу:[http://mediclab.com.ua/index.php? newsid=16018](http://mediclab.com.ua/index.php?%20newsid=16018)

153. French J.A. Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs II: treatment of refractory epilepsy: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society / J.A. French, A.M. Kanner, J. Bautista [et al.] // Neurology. –2004. – V. 62. – Р. 1261-1273.

154. Lakhan R. No association of ABCB1polymorphisms with drug-refractory epilepsy in a north Indian population / R. Lakhan, U.K. Misra, J. Kalita [et al.] // Epilepsy Behav. – 2008. – V. 4. – Р. 78-82.

155. Mohanraj R. Measuring the efficacy of antiepileptic drugs / R. Mohanraj, M.J. Brodie // Seizure. – 2003. – V. 12. – P. 413-443.

156. Kwan P. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies / P. Kwan, A. Arzimanoglou, AT Berg [et al.] // Epilepsia. – 2010. – V. 51. – Р. 1069-1077.

# 157. Rohracher A. The ILAE definition of drug resistant epilepsy and its clinical applicability compared with “older” established definitions / A. Rohracher, J. Dobesberger, C.A. Granbichler [et al.] // Journal of Epileptology. – 2015. – V. 23, № 1. – P. 39-44.

158. Remy S. Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy / S. Remy, H. Beck // Brain. – 2006. – V. 129. – P. 18-35.

159. Hitiris N. Predictors of pharmacoresistant epilepsy / N. Hitiris, R. Mohanraj, J. Norrie [et al.]// Epilepsy Res. – 2007. – V. 75. – Р. 192-196.

160. Volk H.A. Antiepileptic drug resistant rats differ from drug responsive rats in hippocampal neurodegeneration and GABAAreceptor ligand-binding in a model of temporal lobe epilepsy / H.A. Volk, D. Arabadzisz, J.M. Fritschy [et al.] // Neurobiol Dis. – 2006. – V. 21. – Р. 633-646.

161. Mohanraj R. Prediction of refractory epilepsy [abstract] / R. Mohanraj, M.J. Brodie // Epilepsia. – 2003. – Vol. 44 (Suppl 8). – P.156.

162. Bonnett L. Prognostic factors for time to treatment failure and time to 12 months of remission for patients with focal epilepsy: post-hoc, subgroup analyses of data from the SANAD trial / L. Bonnett, C.T. Smith, D. Smith [et al.] // Lancet Neurol. – 2012. – V. 11. – P. 331-342.

163. Gitai D.L. Genes and epilepsy I: epilepsy and genetic alterations / D.L. Gitai, R.N. Romcy-Pereira, L.L. Gitai [et al.] / Rev. Assoc. Med. Bras. – 2008. – V. 54, № 3. – P. 272-278.

164. Kumar D. [Genomics and clinical medicine](http://books.google.ca/books?id=BbeWA-gbiiwC&pg=PA279) / D. Kumar. – Oxford: Oxford University Press, 2008. – Р.  672.

165. [Bidwell](javascript:void(0);) J. Seizure reporting technologies for epilepsy treatment: A review of clinical information needs and supporting technologies / [J. Bidwell](javascript:void(0);), [T. Khuwatsamrit](javascript:void(0);), [B. Askew](javascript:void(0);) [et al.] // Seizure. – 2015. – V. 32. – P. 109-117.

166. Громов Л.А. Межполушарная психофармакология / Л.А. Громов, О.А. Евтушенко, И.Н. Танасова // Журнал АМН України. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 346-353.

167. Михеев В.В. Нейрофармакологический анализ межполушарной асимметрии мозга в регуляции поведения, болевой чувствительности и анальгезии у мишей разных генетических линий / В.В. Михеев, П.Д. Шабанов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – № 3-4. – С. 2132-2145.

168. Crow T.J. A theory of the origin of cerebral asymmetry. Epigenetic variation superimposed on a fixed right-shift / T.J. Crow // Laterality. – 2009. – V. 13. – P. 1-15.

# 169. Avanzini G. Is Tolerance to Antiepileptic Drugs Clinically Relevant? / G. Avanzini // Epilepsia. – 2006. – V. 47(8). – P. 1285-1287.

170. Громов Л.А. Толерантность (терапевтическая резистентность) к действию лекарственных препаратов / Л.А. Громов // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – № 12. – С. 39-41.

171. Литовченко Т.А. Причины развития резистентной эпилепсии и основные принципы ее лечения / Т.А. Литовченко // Здоров’я України. – 2003. – № 83.

172. Вольф П. Фармакорезистентность и эпилепсия / П. Вольф // Межд. неврол. журнал. – 2006. – № 4 (8). – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.mif-ua.com/archive/article/2445>

173. Онегин Е.В. Алгоритм диагностики и лечения фармакорезистентных эпилепсий у детей / Е.В. Онегин // Журнал ГрГМУ. – 2010. – № 1. – С. 20-24.

174. Schiller Y. Quantifying the response to antiepileptic drugs: effect of past treatment history / Y. Schiller, Y. Najjar // Neurology. – 2008. – V. 70. – P. 54-67.

175. Callaghan B. Remission and relapse in a drug-resistant epilepsy population followed prospectively / B. Callaghan, M. Schlesinger, W. Rodemer [et al.] // Epilepsia. – 2011. – V. 52. – P. 619-723.

176. Зенков Л.Р. Фармакорезистентные эпилепсии: Руководство для врачей / Л.Р. Зенков, А.Г. Притыко. – М.: МЕДпресс-информ, 2003. – 208 с.

177. Koella W.P. Tolerance: its various forms and their nature. In: Frey H.H., Froscher W., Koella W.P. [et al.]. Tolerance to beneficial and adverse effects of antiepileptic drugs. – New York: Raven Press, 1986. – P. 1-6.

178. Löscher W. Critical Review. Experimental and Clinical Evidence for Loss of Effect (Tolerance) during Prolonged Treatment with Antiepileptic Drugs / W. Löscher, D. Schmidt // Epilepsia. – 2006. – V. 47, № 8. – Р. 1253-1284.

179. Грэхам-Смит Д.Г., Аронсон Дж.К. Окс­фордский справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии. – М.: Медицина, 2000. – 744 с.

180. O’Brien C.P. Drug addiction and drug abuse. In: Hardman J.G., Limbird L.E., eds. Goodman & Gilman’s the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001. – P. 21-644.

181. Millichap J.G. Anticonvulsant action of acetazolamide alone and in combination with ammonium chloride / J.G. Millichap, L.D. Thatcher, P.M. Williams // Fed Proc. –1955. – V.14. – Р. 370-371.

182. Millichap J.G. Anticonvulsant action of diamox in children / J.G. Millichap // Neurology. – 1956. – V. 6. – Р. 552-559.

183. Löscher W. Anticonvulsant efficacy of the low-affinity partial benzodiazepine receptor agonist ELB 138 in a dog seizure model and in epileptic dogs with spontaneously recurrent seizures / W. Löscher, H. Potschka, S. Rieck [et al.] // Epilepsia. – 2004. – V. 45. – Р. 1228-1239.

184. Chung S. Comparative retention rates and long-term tolerability of new antiepileptic drugs / S. Chung, N. Wang, N. Hank // Seizure. – 2007. – V. 4. – P. 296-304.

185. Gent J.P. Benzodiazepine cross-tolerance in mice extends to sodium valproate / J.P. Gent, M. Bentley, M. Feely [et al.] // Eur J Pharmacol. –1986. – V. 128. – Р. 9-15.

186. Rogawski M.A. The neurobiology of antiepileptic drugs / M.A. Rogawski, W. Lỏscher // Nat Rev Neurosci. –2004. – V. 5. – Р. 553-564.

187. Krupp E. Tolerance to the anticonvulsant effects of lamotrigine on amygdale kindled seizures: cross-tolerance to carbamazepine but not valproate or diazepam / E. Krupp // Exp. Neurol. – 2000. – V. 162, № 2. – P. 278-289.

188. Brocco M.J., McMillan D.E. // Pharmacol. Exp. Ther. – 1983. – V. 224, № 1. – P. 34-39.

189. Serra M. Antagonism of convulsions but failure to enhance GABA(A) receptor function by felbamate in mice tolerant to diazepam / M. Serra, R. Cuccu, C.A. Ghiani [et al.] // Neurochem Res. –1997. – V. 22. – Р. 693-697.

190. Zhang Z.J. Unidirectional cross-tolerance from levetiracetam to carbamazepine in amygdale-kindled seizures / Z.J. Zhang // Epilepsia. – 2003. – V. 44. – P. 1487-1493.

191. Кукес В.Г. Изучение биотрансформации лекарственных средств – путь к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии / В.Г. Кукес, Д.А. Сычев, Е.И. Ших // Врач. – 2007. – № 1. – С. 6-8.

192. Головенко М.Я. Фізико-хімічна фармакологія: Монографія. – Одеса: Астропринт, 2004. – 720 с.

193. Арчаков А.И. Цитохромы Р-450, лекарственная болезнь и персонифицированная медицина. Часть I. / А.И. Арчаков, А.В. Лисица, Н.А. Петушкова [и др.] // Клиническая медицина. – 2008. – № 2. – С. 4-7.

194. Чаукина С.В. Особенности метаболизма лекарственных средств под действием изоферментов цитохрома Р-450 / С.В. Чаукина // Фармация. – 2008. – № 3. – С. 47-48.

195. Болдырева С.Р. Роль лекарственного мониторинга в ведении больных эпилепсией / С.Р. Болдырева, А.Ю. Ермаков // Обозрение психиатрии и медицинской психологии им. Бехтерева. – № 3. – 2008. – С. 9-12.

196. Pearce R. E. Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro. II. The role of human cytochrome P450 enzymes in the formation of 2-hydroxyiminotilbene / R.E. Pearce, J.P. Uetrecht, J.S. Leeder // Drug Metab. and Dispos. – 2005. – V. 33, 12. – P. 1819-1826.

197. Арчаков А.И. Цитохромы Р-450, лекарственная болезнь и персонифицированная медицина. Часть II. Терапевтический лекарственный моніторинг как метод оценки активности монооксигеназной системы / А.И. Арчаков, А.В. Лисица, Н.А. Петушкова [и др.] // Клиническая медицина. – 2008. – № 3. – С. 4-6.

198. Aldaz A. Pharmacokinetic Monitoring of Antiepileptic Drugs / A. Aldaz, R. Ferriols, D. Aumente [et al.] // Farm Hosp. – 2011. – V. 35. – P. 326-339.

199. Евтушенко С.К. Мониторинг уровня антиконвульсантов в крови как протокольная необходимость в контроле терапии больных эпилепсией / С.К. Евтушенко, Н.Ю. Иванова, А.А. Омельяненко [и др.] // Междун. неврол. журнал. – 2008. – № 5 (21). – С. 15-21.

200. Johannessen S.I. Value of therapeutic drug monitoring in epilepsy / S.I. Johannessen, C.J. Landmark // Expert Rev. Neurother. – 2008. – V. 8 (6). – P. 929-939.

201. Warner A. Standards of laboratory practice: antiepileptic drug monitoring / A. Warner, M. Privitera, B. David // Clinical Chemistry. – 1998. – V. 44, № 5. – P. 1085-1095.

202. Белоусов Ю.Б. Терапевтический лекарственный мониторинг антиконвульсантов в реальной практике / Ю.Б. Белоусов, М.В. Леонова, Л.Л. Штейнберг [и др.] // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2013. – Т. 5, № 3. – С. 6-16.

203. Ebid A.H. Therapeutic drug monitoring and clinical outcomes in epileptic Egyptian patients: A gene polymorphism perspective study / A.H. Ebid, M.M. Ahmed, S.A. Mohammed // Ther DrugMonit. –2007. – V. 29. – Р. 305-312.

204. Neels H.M. Therapeutic drug monitoring of old and newer antiepileptic drugs / H.M. Neels, A.C. Sierens, K. Naelaerts [et al.] // Clin. Chem. Lab. Med. – 2004. – V. 42 (11). – P. 1228-1255.

205. Shakya G. Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs / G. Shakya, S. Malla, K.N. Shakya [et al.] // J. Nepal. Med. Assoc. – 2008. – V. 47 (171). – P. 94-97.

206. BeckH. Plasticity of antiepileptic drug targets / H. Beck//Epilepsia*. –* 2007. – V.48 (suppl. 1.) – P. 14-18.

207. Löscher W. Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters / W. Löscher, H. Potschka // Nature Rev Neurosci. – 2005. – V. 6. – Р. 591-602.

208. Löscher W. Current knowledge on basic mechanisms of drug-resistance. In: Kahane P., Berg A., Löscher W. [et al.], eds. Progress in Epileptic Disorders,Vol. 7. Drug-Resistant Epilepsies. Montrouge: John Libbey, 2008. – Р. 47-62.

209. Remy S. Anticonvulsant pharmacology of voltage-gated Na+ channels in hippocampal neurons of control and chronically epileptic rats / S. Remy, B.W. Urban, C.E. Elger [et al.] // Eur J Neurosci. – 2003. – V. 17. – P. 2648-2658.

210. Jandova K. Carbamazepine-resistance in the epileptic dentate gyrus of human hippocampal slices / К. Jandova, D. Pasler, L.L. Antonio [et al.] // Brain. – 2006. – Vol. 129. – Р. 3290-3306.

211. Ellerkmann R.K. Molecular and functional changes in voltage-dependent Na+ channels following pilocarpine-induced status epilepticus in rat dentate granule cells / R.K. Ellerkmann, S. Remy, J. Chen [et al.] // Neuroscience. – 2003. – V. 119. – Р. 323-333.

212. Whitaker W.R. Changes in the mRNAs encoding voltage-gated sodium channel types II and III in human epileptic hippocampus / W.R. Whitaker, R.L. Faull, M. Dragunow [et al.] // Neuroscience. – 2001. – V. 106. – Р. 275-285.

213. Lucas P.T. An epilepsy mutation in the beta1 subunit of the voltage-gated sodium channel results in reduced channel sensitivity to phenytoin / P.T. Lucas, L.S. Meadows, J. Nicholls [et al.] // Epilepsy Res. – 2005. – V. 64. – Р. 77-84.

214. Brandt C. The multidrug transporter hypothesis of drug resistance in epilepsy: Proof-ofprinciple in a rat model of temporal lobe epilepsy / С. Brandt, K. Bethmann, A.M. Gastens // Neurobiol Dis. – 2006. – V. 24. – Р. 202-211.

215. SidAhmed-Mezi M. Нові терапевтичні мішені для розробки молекул, активних при лікарсько-резистентних епілепсіях / M. SidAhmed-Mezi, R. Pumain, J. Louvel [et al.] // Epilepsia. – 2010. – V. 51 (Suppl. 3). – Р. 43-47.

216. Curia G. Protein-kinase C-dependent phosphorylation inhibits the effect of the antiepileptic drug topiramate on the persistent fraction of sodium currents / G. Curia, P. Aracri, G. Sancini [et al.] // Neuroscience. – 2004. – V. 127. – Р. 63-68.

217. Tian G.F. An astrocytic basis of epilepsy / G.F. Tian, H. Azmi, T. Takano [et al.] // Nat Med. – 2005. – V. 11. – Р. 973-981.

218. Ferguson S.S.G. Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling / S.S.G. Ferguson // Phatmacol Rev. – 2001. – V. 53. – P. 1-24.

219. Козловский В.Л. Лекарственная резистентность в психиатрии – проблема патофизиологии или фармакологии? / В.Л. Козловский // Журнал неврологии и психиатрии. – № 1. – 2009. – С. 85-89.

220. [Kobayashi K](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kobayashi%20K%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22150053). Drug-resistant epilepsy / K. Kobayashi, H. [Yoshinaga](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Yoshinaga%20H%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22150053), Y. [Ohtsuka](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ohtsuka%20Y%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22150053) // [N Engl J Med.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22150053) – 2011. – V. 365, № 23. – P. 2238-2239.

221. Löscher W. Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs / W. Löscher, H. Potschka // J Pharmacol Exp Ther. – 2002. – V. 301. – Р. 7-14.

222. Kwan P. Potential role of drug transporters in the pathogenesis of medically intractable epilepsy / P. Kwan, M.J. Brodie // Epilepsia. – 2005. – V. 46. – P. 224-35.

223.  [Löscher W](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=L%C3%B6scher%20W%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=17316407). . Drug transporters in the epileptic brain / W. Löscher // [Epilepsia.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17316407) – 2007. – V. 48, Suppl 1. – P. 8-13.

224. Xu C. Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics / C. Xu, C.Y. Li, A.N. Kong // Arch Pharm Res. –2005. – V. 28. – Р. 249-268.

225. Robey R.W. P-glycoprotein *–* A clinical target in drug-refractory epilepsy? / R.W. Robey, A. Lazarowski, S.E. Bates // Mol Pharmacol*. –* 2008. – V. 73. – Р. 1343-1346.

226. Lazarowski A. ABC Transporters during Epilepsy and Mechanisms Underlying Multidrug Resistance in Refractory Epilepsy / A. Lazarowski, L. Czornyj, F. Lubienieki [et al.] // Epilepsia. – 2007. – V. 48. – P. 140-149.

227. Luna-Tortos C. Several major antiepileptic drugs are substrates for human P-glycoprotein / С. Luna-Tortos, M. Fedrowitz, W. Löscher // Neuropharmacology. – 2008. – V. 5. – Р. 1364-1375.

228. Dean M. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily / М. Dean, A. Rzhetsky, R. Allikmets // Genome Res. – 2001. – V. 11. – P. 1156-1166.

229. Borst P. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins / Р. Borst, R. Evers, M. Kool [et al.] // J Natl Cancer Inst. – 2000. – V. 92. – P. 1295-1302.

230. Dombrowski S.M. Overexpression of multiple drug resistance genes in endothelial cells from patients with refractory epilepsy / S.M. Dombrowski, S.Y. Desai, M. Marroni [et al.] // Epilepsia. – 2001. – V. 42. – Р. 1501-1506.

231. Sisodiya S.M. Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy / S.M. Sisodiya, W.R. Lin, B.N. Harding [et al.] // Brain. –2002. – V. 125. – Р. 22-31.

232. Potschka H. Multidrug resistance protein MRP2 contributes to blood-brain barrier function and restricts antiepileptic drug activity / H. Potschka, M. Fedrowitz, W. Löscher // J Pharmacol Exp Ther. – 2003b. – V. 306. – Р. 124-131.

233. Rizzi M. Limbic seizures induce Pglycoprotein in rodent brain: functional implications for pharmacoresistance / М. Rizzi, S. Caccia, G. Guiso [et al.] // J Neurosci. – 2002. – V. 22. – Р. 5833-5839.

234. Volk H.A. Multidrug resistance in epilepsy: Rats with drug-resistant seizures exhibit enhanced brain expression of P-glycoprotein compared with rats with drug-responsive seizures / H.A Volk, W. Löscher // Brain. –2005. – V. 128. – Р. 1358-1368.

235. Remy S. A novel mechanism underlying drug-resistance in chronic epilepsy / S. Remy, S. Gabriel, B.W. Urban [et al.] // Ann Neurol. – 2003. – V. 53. – Р. 469-479.

236. van Vliet E.A. Inhibition of the multidrug transporter P-glycoprotein improves seizure control in phenytoin-treated chronic epileptic rats / van Vliet E.A., van Schaik R., P.M. Edelbroek [et al.] // Epilepsia. – 2006. – V. 47. – Р. 672-680.

237. [Feldmann M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Feldmann%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23786896).. P-glycoprotein expression and function in patients with temporal lobe epilepsy: a case-control study / М. Feldmann, M.C. [Asselin](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Asselin%20MC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23786896), J. [Liu](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Liu%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23786896) [et al.] // [Lancet Neurol.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23786896) – 2013. – V. 12, № 8. – Р. 777-785.

238. EURIPIDES; cf., [www.euripides-europe.com](http://www.euripides-europe.com)

239. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / О.В. Стефанов. – К.: Авіцена, 2002. – 527 с.

240. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко [та ін.] – Київ, 2002. – 155 с.

241. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe, - Strasbourg, 1986. – 53 p.

242. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідах // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – Т. 2, № 22. – С. 108-109.

243. Macdonald R.L., Meldrum B.S. Principles of antiepileptic drug action // Antiepileptic drugs / Ed. R.H. Levy, R.H.Mattson, B.S.Meldrum. – N.Y.: Raven Press, Ltd, 1995. – P. 61-77.

244. Євтушенко О.О. Нейромедіаторні механізми дії деяких протисудомних засобів / О.О. Євтушенко // Ліки. – 2003. – № 5-6. – С. 74-78.

# 245. [Kaster M.P](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kaster%20MP%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=17433291). Antidepressant-like effect of lamotrigine in the mouse forced swimming test: evidence for the involvement of the noradrenergic system / M.P. [Kaster](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kaster%20MP%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=17433291), I. [Raupp](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Raupp%20I%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=17433291), R.W. [Binfaré](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Binfar%C3%A9%20RW%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=17433291) [et al.] // [Eur J Pharmacol.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17433291) – 2007. – V. 565, № 1-3. – P. 119-124.

246. Martindale. The extra pharmacopoeia / Ed. J.E. Reynolds. – L., 1996. – 2739 p.

247. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура // М., 2000. – 352 с.

248. Крыжановский Г.Н. Гиппокамп как детерминантная структура, генерирующая эпилептическую активность при коразоловом киндлинге / Г.Н. Крыжановский, А.А. Шандра, Р.Ф. Макулькин [и др.]// Бюлл. эксп. биологии и медицины. – 1985. – № 5. – С. 527-532.

249. Golgovina S. M. Effect of antidepressants on the convulsant action of thiosemicarbazide, strychine, and metrazol / S. M. Golgovina, N. I. Andreeva **//** [Bulletin of Experimental Biology and Medicine](http://link.springer.com/journal/10517). – 1986. – V. 102, № 3. – Р. 1201-1203.

250. Koella W.P. Animal Experimental Methods in the Study of Antiepileptic Drugs / W.P. Koella // Antiepileptic Drugs. – 1985. – V. 5, № 4. – P. 283-339.

251. Танасова І.М. Нейромедіаторні механізми протисудомної дії етосуксиміду та «етімону» / І.М. Танасова, Г.В. Овінова, М.А. Філоненко-Патрушева, Л.О. Громов // Проблемы медицины. – 2000. – № 5(19). – С. 4-7.

252. Ottow E. Excitatory amino acids: ten years later / Ed. L. Turski, D.D. Schoepp, E.A. Cavalheiro. – Ios Press, Ltd, 2001. – P. 329-344.

253. Бобирьов В.М. Фармакологічний аналіз морфо-функціональних основ центральної нейротропної дії похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти / В.М. Бобирьов, Р.В. Луценко // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2, Т. 1. – С. 102-104.

254. Доклінічне вивчення специфічної активності потенціальних протисудомних препаратів: Методичні рекомендації, під ред. акад. Головенко М. А., проф. Громова Л. О. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2003. – 46 с.

255. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон // М.: Высшая школа, 1991. – 398 с.

256. Крыжановский Г.Н. Киндлинг как модель формирования эпилептической активности / Г.Н. Крыжановский, А.А. Шандра, Л.С. Годлевский // Успехи физиол. наук. – 1988. – Т. 19, № 4. – С. 12-32.

257. Barton M.E. The effect of CGX-1007 and CI-1041, novel NMDA receptor antagonists, on kindling acquisition and expression / M.E. Barton, B.D. Klein, H.H. Wolf [et al.] // Epilepsy Res. – 2001. –№ 47. – P. 17-27.

258. Опришко В.І. [Антиоксидантна модуляція фармакологічної активності анальгетичних та протисудомних засобів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук / В. І. Опришко. – Київ, 2010. – 36 с.](http://repo.dma.dp.ua/198/)

259. Биоскрининг: лекарственные средства / Под. ред. А.В. Стефанова – К.: Авиценна, 1998. – 250 с.

260. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (под. ред. В.П. Фесенко). – М.: ЗАО «Ремедиум», 2000. – 398 с.

261. Євтушенко О.О. Фармакологічний аналіз центральних нейромедіаторних механізмів дії протисудомних препаратів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / О.О. Євтушенко. – Київ, 2005. – 20 с.

262. Каркищенко Н.Н. Фармакокинетика / Н.Н. Каркищенко, В.В. Хоронько, С.А. Сергеева, В.Н. Каркищенко // Ростов-на-Дону: “Феникс”. – 2001. – 384 с.

263. Методичні рекомендації по доклінічному вивченню фармакокінетики лікарських засобів: під ред. М.Я. Головенко, І.С. Безверха, В.А. Жила, В.Г. Зіньковський, О.В. Жук // – К.: ФК МОЗ України. – 1995. – 28 с.

264. Gaviraghi G. Pharmacokinetic Challenges in Lead Optimization / G. Gaviraghi, R.J. Barnaby, M. Pellegatti // Verona. – 2002. – V.24 – Р.14-21.

265. Testa B. Pharmacokinetic Optimization in Drug Research / B. Testa, H. Waterbeemd, G. Folkers, R. Guy // Verlag Helvetia Chimica Acta. Zurich. – 2001. – 655 p.

266. Валідація аналітичних методик і випробувань / Державна Фармакопея України. ДП «Наук. – експертн. фармакоп. Центр». – [1-е вид.]. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – С. 58-67.

267. Подпружников Ю.В. Изучение биоэквивалентности: основа доказательной медицины и фармации / Ю.В. Подпружников, И.А. Зупанец. – Новости медицины и фармации. – 2009. – № 11-12. – С. 285-286.

268. FDA, Guidance for Industry: Process Validation: General Principles and Practices // Federal Register. – 2011. – V. 76, № 16. – P. 4360-4361.

269. Guideline on bioanalytical method validation / Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)/EMEA/CHMP/EWP/19221 /2009. // 21 July 2011. – 22 p.

270. Validation of analytical Methods: Definitions and Terminology // ICN Topic Q 2 EMEA. CPMP/ICN/381/95/ – P. 1-5.

271. Дьюсберри Р. Изучение поведения животных. – М.: Наука, 1980. – 376 с.

272. STATISTICA 6. Статистический анализ данных / А.А. Халафян. – М.: Бином-Пресс, 2007. – 512 с.

273. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич – К.: Морион, 2001. – 314 с.

274. Сергиенко В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева // М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2006. – 304 с.