

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ ХЛОРФЕНИЛПРОИЗВОДОГО МОЧЕВИНЫ С ПРОТИВОСУДОРОЖНЫМ ДЕЙСТВИЕМ НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ ИОНОВ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. И. Венгеровский, О. Е. Ваизова, М. И. Смагина, В. Н. Худолей¹

В экспериментах на кроликах соединение с противосудорожной активностью 1-((3-хлорфенил)(фенил)метил)мочевина, отобранное в процессе скрининга 100 линейных и циклических производных мочевины, синхронизировало спонтанную биоэлектрическую активность и повышало судорожный порог в двигательной зоне коры больших полушарий, дорзальном гиппокампе и базолатеральных ядрах амигдалы, увеличивало индекс усвоения низкочастотных световых мельканий и ослабляло реакцию на высокочастотные колебания в зрительной области коры кроликов. Изученное соединение повышало в двигательной зоне коры больших полушарий, дорзальном гиппокампе и миндалине внеклеточное содержание ионов натрия и снижало внутриклеточное содержание ионов калия.

Ключевые слова: 1-((3-хлорфенил)(фенил)метил)мочевина; кора больших полушарий; дорзальный гиппокамп; миндалина; электроэнцефалограмма; баланс ионов натрия и калия; кролики.

ВВЕДЕНИЕ

Для эффективной фармакотерапии эпилепсии рационально применять лекарственные средства, способные полностью предотвращать припадки и улучшать качество жизни пациентов без нервно-психических и соматических побочных реакций. Противоэпилептические средства применяют длительно, в большинстве случаев — пожизненно, при этом многие из них обладают потенциальной вестибуло- и гепатотоксичностью, могут угнетать кроветворение, вызывать поликистоз яичников и агрессию припадков [1, 2]. Для курсового лечения эпилепсии с парциальными и тонико-клоническими припадками традиционно применяют фенобарбитал и его менее токсичные, не оказывающие снотворного действия производные — примидон и бензобарбитал [9, 11, 12]. Представляется перспективным поиск эффективных и безопасных противоэпилептических средств в группе линейных производных мочевины (барбитураты — циклические производные). Одно из таких соединений, 1-((3-хлорфенил)(фенил)метил)мочевина (ХФММ), было отобрано в процессе скрининга 100 производных мочевины и показало высокую активность на экспериментальных моделях судорог. По широте терапевтического действия ХФММ превосходит фенобарбитал и бензобарбитал. ЛД₅₀ ХФММ для аутбредных мышей, крыс и кроликов достигает 2570–2620 мг/кг, эффективная доза (ED₅₀) по тесту подавления судорог, вызванных максимальным электрошоком у мышей, составляет 11,8 мг/кг [6].

Цель данной работы — экспериментальное изучение влияния нового линейного производного мочевины на биоэлектрическую активность, электровозбудимость и электролитный баланс головного мозга кроликов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на 16 кроликах породы шиншилла обоего пола массой 2,8–3,2 кг, выращенных в конвенциональных условиях в клинике лабораторных животных НИИ фармакологии СО РАМН. Исследования выполняли в соответствии с рекомендациями [5]. Кроликам за 2 нед до эксперимента в двигательную и зрительную области коры больших полушарий, дорзальный гиппокамп и базолатеральные ядра миндалины вживляли биполярные электроды согласно координатам [10]. ХФММ в ранее установленной эффективной терапевтической дозе 300 мг/кг [6] в виде суспензии в 1 % крахмальной слизи вводили в желудок. Биопотенциалы регистрировали на восьмиканальном электроэнцефалографе “Орион” (Россия) в течение 3 ч после введения препарата. Фотостимуляцию осуществляли с помощью прибора ФС-02 (Россия). В зрительной и двигательной зонах коры рассчитывали индекс усвоения ритма световых мельканий в процентах, как отношение продолжительности эпизодов волн навязанных частот к длительности регистрации ЭЭГ на фоне стимуляции. Электровозбудимость двигательной области коры, гиппокампа и миндалины оценивали по изменению судорожного порога, продолжительности и электрографической картине ответа, вызванного прямым раздражением этих образований прямоугольными импульсами частотой 60–70 Гц, длительностью 0,5–2 мс при продолжительности стимуляции 5 с и напряжении, повышаю-

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050, ул. Московский тракт, 2

Таблица 1. Влияние соединения ХФММ на судорожный порог при электростимуляции головного мозга кроликов ($M \pm m$, $n = 8$)

Структура головного мозга	До введения ХФММ, В	После введения ХФММ, В, через		
		1 ч	2 ч	3 ч
Двигательная область коры больших полушарий	$3,60 \pm 0,21$	$4,83 \pm 0,31^*$	$4,91 \pm 0,39^*$	$5,03 \pm 0,51^*$
Дорзальный гиппокамп	$2,04 \pm 0,36$	$2,15 \pm 0,28$	$3,16 \pm 0,22^*$	$2,95 \pm 0,15^*$
Базолатеральные ядра миндалины	$2,91 \pm 0,18$	$3,05 \pm 0,17$	$4,53 \pm 0,21^*$	$4,56 \pm 0,19^*$

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем до введения ХФММ.

щемся от 1 до 7 В. Раздражение наносили с помощью электростимулятора ЭСТ-10 (Россия). Для определения судорожного порога устанавливали минимальное напряжение, при котором у кроликов развивался судорожный припадок с картиной на ЭЭГ. Внутри- и внеклеточное содержание ионов натрия и калия в коре, гиппокампе и миндалине определяли методом пламенной фотометрии на пламенном фотометре PLAPHO (Carl Zeiss, Германия) [8] до и через 3 ч после введения ХФММ. Статистическую обработку результатов проводили методом парных сравнений с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия величин оценивали как достоверные при уровне $p < 0,05$ [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У интактных кроликов при регистрации биоэлектрической активности моторной и зрительной зон коры больших полушарий преобладал низкоамплитудный ритм частот. Амплитуда волн составляла 38 и 51 мкВ, частота — 4–7 и 5–7 колебаний/с соответственно. Через 1 ч после введения ХФММ на электроэнцефалограмме появлялись высокоамплитудные волны (до 100 мкВ) с частотой 3–4 колебания/с.

Синхронизирующее влияние ХФММ на спонтанную биоэлектрическую активность сопровождалось изменением ответов на фотостимуляцию. Через 1 ч

после введения ХФММ в зрительной области коры больших полушарий до $56,4 \pm 5,1\%$ повышался индекс усвоения низкочастотных (2–4 Гц) световых мельканий (до введения ХФММ — $31,3 \pm 2,9\%$). Индекс усвоения ритма высокочастотных колебаний (6–10 Гц) снижался до $15,2 \pm 3,3\%$ (до введения ХФММ — $26,4 \pm 3,5\%$). Изменения сохранялись на протяжении 3 ч регистрации. В моторной области коры через 2 ч регистрировалась тенденция к увеличению индекса усвоения низкочастотных световых мельканий.

Соединение ХФММ не только угнетало спонтанную биоэлектрическую активность и снижало лабильность корковых нейронов, но и уменьшало электровозбудимость двигательной области коры больших полушарий кролика в ответ на прямую электростимуляцию. Так, уже через 1 ч после введения ХФММ судорожный порог (порог разрядов последействия) достоверно возрастал, по сравнению с фоном, на 34,2 %. К 3 ч он увеличивался на 40 % (табл. 1). Под влиянием ХФММ продолжительность судорожного приступа, фиксированного на ЭЭГ, уменьшалась на 23,4 %.

Гипервозбудимость коры больших полушарий является признаком судорожной готовности, на фоне которой легко провоцируются эпилептические припадки с

Таблица 2. Влияние соединения ХФММ на содержание ионов натрия и калия в головном мозге кроликов ($M \pm m$, $n = 8$)

Структура головного мозга	До введения ХФММ	Содержание ионов, мэкв/100 г	
		После введения ХФММ через 3 ч	
Двигательная область коры больших полушарий			
Вне клеток	$17,4 \pm 1,8$	Ионы натрия	$27,5 \pm 1,7^*$
Внутри клеток	$5,7 \pm 0,8$		$6,3 \pm 0,3$
		Ионы калия	$3,8 \pm 0,4^*$
			$30,4 \pm 2,3$
Дорзальный гиппокамп			
Вне клеток	$2,1 \pm 0,3$	Ионы натрия	$29,8 \pm 2,4$
Внутри клеток	$46,7 \pm 2,7$		$5,2 \pm 0,6$
		Ионы калия	$3,1 \pm 0,5^*$
			$33,8 \pm 2,3^*$
Базолатеральные ядра миндалины			
Вне клеток	$20,7 \pm 1,9$	Ионы натрия	$41,2 \pm 2,2^*$
Внутри клеток	$4,5 \pm 0,4$		$3,3 \pm 0,5$
		Ионы калия	$4,1 \pm 0,6^*$
			$30,3 \pm 2,1^*$

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем до введения ХФММ.

быстрой генерализацией возбуждения [3]. Тормозящее влияние ХФММ на спонтанную биоэлектрическую активность, лабильность корковых нейронов и электро-воздбудимость двигательной зоны коры больших полушарий способствует снижению повышенной судорожной готовности мозга.

Соединение ХФММ также существенно угнетало структуры лимбической системы — дорзальный гиппокамп и миндалину (в них чаще всего локализуется эпилептогенный очаг). В дорзальном гиппокампе через 2 ч после введения ХФММ судорожный порог повышался в 1,5 раза, через 3 ч — в 1,4 раза, по сравнению с состоянием до введения. В базолатеральных ядрах миндалины судорожный порог повышался в 1,6 раза к 2 и 3 ч эксперимента (табл. 1). Судорожный разряд на ЭЭГ становился короче на 18,7–20,6 %, по сравнению с его длительностью до введения ХФММ.

После введения ХФММ при электростимуляции одной из структур головного мозга (двигательные отделы коры, дорзальный гиппокамп, базолатеральные ядра миндалины) на ЭЭГ, регистрируемой с других структур, не появлялась судорожная активность. До введения соединения электростимуляция какой-либо из исследованных структур сопровождалась генерализованной судорожной реакцией.

Через 3 ч после введения ХФММ внеклеточная концентрация ионов натрия в двигательных зонах коры и базолатеральных ядрах миндалины повышалась в 1,6 раза, в дорзальном гиппокампе — в 1,4 раза. Внеклеточная концентрация этих ионов существенно не изменялась. Внеклеточная концентрация ионов калия в коре больших полушарий и гиппокампе снижалась в 1,5 раза, в базолатеральных ядрах миндалины — в 1,6 раза. Внеклеточная концентрация ионов калия возрастила в 1,8–2,4 раза (табл. 2). Такие изменения ионного баланса свидетельствуют о вызываемой ХФММ гиперполяризации нейронов двигательных зон коры больших полушарий и лимбической системы.

Известно, что эпилептогенный очаг чаще всего локализован в структурах головного мозга с низким судорожным порогом — двигательных отделах коры, гиппокампе и миндалине [1]. ХФММ тормозит их биоэлектрическую активность и снижает электровозбудимость. Механизм угнетения этих структур головного мозга обусловлен изменениями ионного градиента

мембранны нейронов, ведущих к развитию гиперполяризации.

ВЫВОДЫ

1. В эксперименте на кроликах линейное производное мочевины 1-((3-хлорфенил)(фенил)метил)мочевина оказывало синхронизирующее влияние на ЭЭГ, повышало индекс усвоения низкочастотных световых мельканий в зрительной коре.
2. Соединение 1-((3-хлорфенил)(фенил)метил)мочевина повышало судорожный порог в двигательной зоне коры больших полушарий, дорзальном гиппокампе и базолатеральных ядрах миндалины, увеличивало в этих структурах головного мозга внеклеточное содержание ионов натрия и снижало внутриклеточное содержание ионов калия.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Венгеровский, *Фармакология. Курс лекций*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2012).
2. К. В. Воронкова, О. А. Пылаева, Е. С. Косякова и др., *Ж. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, 110(6), 24–26 (2010).
3. В. А. Карлов, *Эпилепсия у детей и взрослых, женщин и мужчин. Руководство для врачей*, Медицина, Москва (2010).
4. А. С. Котов, Ю. А. Белова, *Ж. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, 112(9), 37–40 (2012).
5. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Ч. 1, Гриф и К, Москва (2013).
6. Т. П. Новожеева, А. С. Саратиков, *Хим.-фарм. журн.*, 37(12), 3–4 (2003); *Pharm. Chem. J.*, 37(12), 623–625 (2003).
7. Р. Х. Хафизьянова, И. М. Бурыкин, Г. Н. Алеева, *Математическая статистика в экспериментальной фармакологии*, Медицина, Казань (2006).
8. М. С. Яременко, И. Г. Кочемасова, *Физiol. ж. СССР*, 52(6), 765–770 (1966).
9. S. J. Nolan, C. Tudur Smith, J. Pulman, A. G. Marson, *Cochrane Database Syst. Rev.*, 1:CD002217 (2013).
10. C. Sawyer, J. Everett, J. Gren, *J. Comp. Neurol.*, 10(7), 821–824 (1954).
11. U. Yilmaz, T. S. Yilmaz, G. Dizdarer, et al., *Seizure.*, 23(4), 252–259 (2014).
12. L. Mantoan, M. Walker, *Cur. Treat. Opin. Neurol.*, 13(4), 355–370 (2011).

Поступила 04.07.14

INFLUENCE OF A DRUG WITH ANTICONVULSANT ACTION ON THE LEVEL OF BIOELECTRIC ACTIVITY AND ION CONTENT IN BRAIN STRUCTURES

A. I. Vengerovskii, O. E. Vaizova, M. I. Smagina, and V. I. Khudolei

Department of Pharmacology, Siberian State Medical University, Moskovskii trakt 2, Tomsk, 634050 Russia

1-[(3-chlorophenyl)phenylmethyl]urea — a compound possessing anticonvulsant activity, which has been selected by screening among 100 linear and cyclic urea derivatives, produces synchronization of spontaneous bioelectric activity, increased convulsion threshold in the motor cortex, dorsal hippocampus, and basolateral nuclei of amygdala, increased the index of low-frequency flicker acquisition, and reduced response to high-frequency oscillations in the visual cortex of rabbits. This compound also increased the extracellular content of sodium ions and reduced intracellular content of potassium ions in the motor cortex, dorsal hippocampus, and amygdala.

Keywords: 1-[(3-chlorophenyl)phenylmethyl]urea; cerebral cortex; dorsal hippocampus; amygdala; electroencephalogram; sodium – potassium ion balance; rabbits