

Проблемная комиссия «Эпилепсия. Пароксизмальные состояния» РАМН и Минздравсоцразвития России
Российская Противозепилептическая Лига

ЭПИЛЕПСИЯ и пароксизмальные СОСТОЯНИЯ

2010 Том 2 №4



Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <http://www.epilepsia.ru>. Не предназначено для использования в коммерческих целях. Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел: +74956495495; e-mail: info@irbis-1.ru
Copyright © 2011 Издательство ИРБИС

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЭПИЛЕПТОЛОГИЯ

Авакян Г.Н.¹, Бадалян О.Л.¹, Бурд С.Г.¹, Вальдман Е.А.²,
Воронина Т.А.², Неробкова Л.Н.², Крикова Е.В.², Авакян Г.Г.¹,
Чуканова А.С.¹, Стойко М.И.¹, Савенков А.А.¹

¹ ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Росздрава,
² ГУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН

В настоящей статье обсуждаются проблемы экспериментальной и клинической эпилептологии. Для разработки и внедрения новых средств, технологий лечебных воздействий, а также изучения основных «мишеней» действия противозепилептических препаратов необходимо экспериментальное моделирование различных форм эпилепсий и эпилептических приступов. Изучены изменения электрической активности мозга у крыс с хроническим кобальтовым эпилептогенным очагом – оптимальной экспериментальной модели эпилептической системы. Показана значимость гипоталамуса как ведущей (детерминантной) структуры патологической эпилептической системы при формировании вторично-генерализованных приступов. Выявлены «мишени» воздействия и возможности комбинирования антиконвульсантов и антиоксидантов. Фармакогенетические исследования позволяют прогнозировать эффекты различных противозепилептических препаратов.

Ключевые слова: эпилепсия, эпилептическая система, фармакогенетика, экспериментальная эпилептология, клиническая эпилептология.

Эпилепсия – хроническое заболевание нервной системы, одно из наиболее распространенных в мировой популяции, которым страдает около 50 миллионов человек, или 0,5-1% населения мира (Карлов В.А., 2002; Wolf P., 2005). При этом не менее одного приступа в течение жизни переносят 5% населения; у 20-30% больных заболевание является пожизненным. Актуальность изучения эпилепсии обусловлена высоким уровнем заболеваемости, тяжелой медико-социальной значимостью этого заболевания не только для больного и его родственников, но и для общества в целом (Гусев Е.И., Бурд Г.С., 1995; Berto, 2002).

Для решения многочисленных проблем, и, в первую очередь, для понимания процессов формирования эпилептической и антиэпилептических систем, изучения механизмов реализации приступов, разработки и внедрения новых средств и технологий лечебных воздействий, а также изучения основных «мишеней» действия базисных и новых противозепилептических препаратов необходимо экспериментальное моделирование различных форм эпилепсий и эпилептических приступов.

Экспериментальные исследования на различных моделях эпилепсии совместно проводились сотрудниками кафедры неврологии и нейрохирургии ГОУ ВПО РГМУ Росздрава и лаборатории психофармакологии ГУ НИИ Фармакологии РАМН.

Для выяснения роли различных структур головного мозга в развитии эпилептической активности (ЭПА) проводилось изучение изменений электрической активности мозга у крыс с хроническим кобальтовым эпилептогенным очагом. С этой целью животным вживлялись долгосрочные электроды в двигательную зону коры правого полушария, дорзальный отдел гиппокампа и латеральные ядра гипоталамуса. В субкортикальные структуры электроды вживлялись с помощью стереотаксического прибора. Операции по вживлению электродов проводились под нембуталовым наркозом (50 мг/кг). Запись электрической активности производилась в условиях свободного передвижения животного по экспериментальной камере. Регистрация биопотенциалов мозга осуществлялась на 17-канальном чернилопишущем энцефалографе «Нейрограф-18» фирмы «О.Т.Е. Биомедика» (Италия) с полосой пропускания от 0,3 до 50 Гц, с одновременной записью цифровой компьютерной ЭЭГ для последующей обработки данных.

Изучение динамики эпилептической активности на 1, 3-4, 5-6, 7-8 дни после аппликации кобальта и в течение 30 минут после введения нейротоксина гомоцистеина тиолактона (НГТ) в дозе 5,5 ммоль/кг с целью провокации приступов вторично-генерализованных тонико-клонических судорог на 7-8 день после аппликации кобальта у контрольных крыс.

Экспериментальное исследование

Схема экспериментов

1. Исследование влияния однократного введения фенитоина в дозе 50 и 100 мг/кг на генерализованные тонико-клонические судороги, вызванные введением нейротоксина гомоцистеина тиолактона (5,5 ммоль/кг) на 7-8 день после аппликации кобальта.

2. Исследование влияния ежедневного применения депакина-хроно в дозе 20 и 30 мг/кг на формирование эпилептической системы (ЭС) в кобальтовой модели эпилепсии у крыс на 1, 3-4, 5-6, 7-8 дни после аппликации кобальта и в течение 30 минут после введения нейротоксина гомоцистеина тиолактона (5,5 ммоль/кг).

3. Исследование влияния ежедневного применения мексидола в дозе 50 мг/кг на формирование эпилептической системы в кобальтовой модели эпилепсии у крыс на 1, 3-4, 5-6, 7-8 дни после аппликации кобальта и в течение 30 минут после введения нейротоксина гомоцистеина тиолактона (5,5 ммоль/кг).

4. Исследование влияния ежедневного комбинированного применения мексидола в дозе 50 мг/кг и депакина-хроно в дозе 20 мг/кг на формирование эпилептической системы в кобальтовой модели эпилепсии у крыс на 1, 3-4, 5-6, 7-8 дни после аппликации кобальта и в течение 30 минут после введения нейротоксина гомоцистеина тиолактона (5,5 ммоль/кг). В каждой серии экспериментов использовалось 10 животных.

Результаты исследования.

Динамика ЭПА у крыс с кобальтовым эпилептогенным очагом изучалась на протяжении 7-8 суток после аппликации кобальта на сенсомоторную зону коры. Регистрацию ЭЭГ начинали через 24 часа (1 сутки) после аппликации кобальта и проводили на 3-4, 5-6 и 7-8 сутки. Непрерывная регистрация ЭЭГ на протяжении 4 часов у контрольных животных показала, что существенные параметры ЭПА (число и длительность разрядов, длительность одного разряда) сохранялись на неизменном уровне со слабыми колебаниями во всех исследуемых структурах на каждом этапе исследования в течение всего эксперимента. Анализ биоэлектрической активности исследуемых структур мозга через 24 часа после операции выявил образование очагов эпилептической актив-

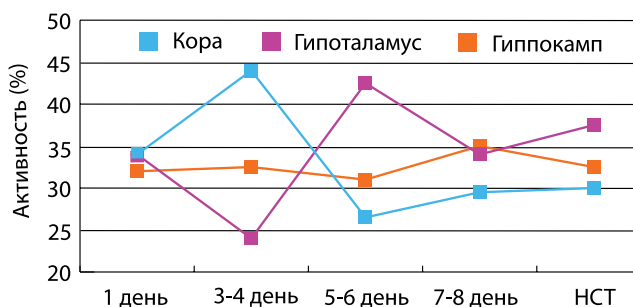


Рисунок 1. Ведущая структура контрольной группы.

* – различия с первым днем достоверны при $p \leq 0,05$.

ности в контралатеральной коре, латеральном гипоталамусе и дорзальном гиппокампе.

Анализ временных характеристик ЭПА показал, что на 3-4 день развития эпилептической системы отмечалось значительное опережение в возникновении ЭПА в контралатеральном полушарии сенсомоторной области коры, что может свидетельствовать о формировании детерминантной (ведущей) структуры ЭПА в данной зоне (рис. 1). На 5-6 день формировалась эпилептическая система со стабильно равным уровнем ЭПА во всех структурах. На 7-8 день после аппликации кобальта формировалась стойкая эпилептическая система, характеризовавшаяся наличием генерализованной ЭПА, равной по числу разрядов и их длительности для всех исследуемых структур. При этом вторичные эпилептогенные очаги в латеральном гипоталамусе и дорзальном гиппокампе приобретали характер детерминантных; корковый, напротив, становился зависимым. Развитие вторично-генерализованных тонико-клонических судорог (ВГТКС) провоцировали путем введения нейротоксина гомоцистеина тиолактона в дозе 5,5 ммоль/кг (внутрибрюшинно). Анализ временных характеристик ЭПА показал синхронность возникновения приступов ЭПА во всех структурах, с незначительным преобладанием гипоталамуса.

Эффект монотерапии депакином или мексидолом

Ежедневное применение депакина в дозе 20 мг/кг на первой стадии развития эпилептической системы имело заметное угнетающее влияние на ЭПА в подкорковых структурах и не влияло на ЭПА сенсомоторной коры. Во второй стадии развития эпилептической системы эффект депакина в дозе 20 мг/кг на ЭПА уменьшался, что приводило к ее усилению во всех исследуемых структурах и проявлялось генерализованными тонико-клоническими судорогами у 80% животных.

Под влиянием депакина в дозе 30 мг/кг на протяжении всего эксперимента (с 1 по 8 день развития эпилептической системы) отмечалось запаздывание в возникновении ЭПА в электрограммах гипоталамуса по сравнению с корой и гиппокампом. После введения гомоцистеина разряды раньше всего возникали в гиппокампе, а позже всего – в гипоталамусе (рис. 2).

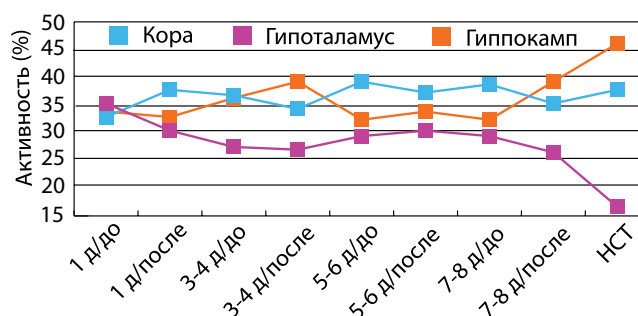


Рисунок 2. Ведущая структура при терапии депакином

30 мг/кг (до – до введения; после – после введения препаратов).

Инъекции мексидола (50 мг/кг внутривенно) проводили ежедневно 1 раз в сутки на протяжении 7-8 дней в утренние часы, начиная с первого дня аппликации кобальта на сенсомоторную область левого полушария головного мозга крыс. Анализ биоэлектрической активности мозга крыс во время развития судорожного припадка показал, что разрядная активность в виде высокоамплитудных острых волн и комплексов «пик-волна» значительно раньше возникали в электрограммах сенсомоторной коры контралатерального полушария, где отмечалось постепенное нарастание ЭПА по амплитуде. В электрограммах латерального гипоталамуса и дорзального гиппокампа разрядная активность имела сходный характер, но пачки разрядов были значительно ниже по амплитуде и длительности.

Эффект комбинированной терапии депакином и мексидолом

Влияние комбинированной терапии мексидолом 50 мг/кг и депакином 20 мг/кг на формирование эпилептической системы у крыс с экспериментальной кобальтовой эпилепсией представлено на рис. 3.

На рисунке видно, что первые 3-4 дня развития эпилептической системы ведущим в формировании ЭПА являлся очаг в сенсомоторной области коры, затем его активность начинала снижаться, а активность гипоталамического очага повышалась.

Начиная с 5 дня активность эпилептогенных очагов стабилизировалась во всех структурах.

Введение гомоцистеина на 7-8 день после аппликации кобальта на фоне применения комбинированной терапии вызывало активацию гиппокампального очага и не влияло на очаг в сенсомоторной области коры. При этом активность гипоталамического очага даже несколько снижалась.

Эффект комбинированной терапии мексидолом 50 мг/кг и депакином 20 мг/кг в большей степени обусловлен влиянием на корково-гипоталамические структуры (рис. 3).

Влияние исследуемых веществ на моторные проявления судорожной активности.

Влияние мексидола, депакина и их комбинации на двигательные проявления эпилептической активности у крыс с кобальтовым эпилептогенным очагом

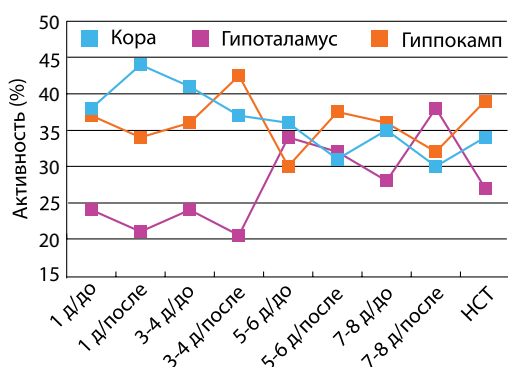


Рисунок 3. Ведущая структура при комбинированной терапии депакином 20 мг/кг и мексидолом 50 мг/кг (до – до введения; после – после введения препаратов).

изучали по показателям числа и продолжительности генерализованных тонико-клонических судорог, длительности латентного периода и интервалов между приступами генерализованных тонико-клонических приступов, а также оценивали поведение крыс. В межприступный период у животных, получавших депакин в дозе 20 мг/кг, отдельные фокальные подергивания отмечались у 30% (контроль – у 40%), комплексные подергивания лап и мышц головы и туловища – у 50% (контроль – у 100%), «барабанный бой» и «боковое положение» – у 60%. Все животные этой группы остались живы. С увеличением дозы депакина до 30 мг/кг изменения поведения в межприступный период нивелировались еще больше. Все животные этой группы также остались живы. Применение мексидола в дозе 50 мг/кг вызывало уменьшение эффектов НГТ, сходное с действием депакина в дозе 20 мг/кг. При комбинированном применении мексидола (50 мг/кг) и депакина (20 мг/кг), при введении НГТ отдельные фокальные подергивания отмечались у 10% (контроль – у 40%), комплексные подергивания лап и мышц головы и туловища – у 10% (контроль – у 100%), «барабанный бой» и «боковое положение» – у 10%. Все животные этой группы остались живы.

Исходя из задач исследования, в качестве препарата сравнения на 7-8 день после аппликации кобальта был использован фенитоин в дозе 50 мг/кг и 100 мг/кг, который вводился внутривенно сразу после второго приступа вторично-генерализованных тонико-клонических судорог, спровоцированных введением нейротоксина гомоцистеина тиолактона в дозе 5,5 ммоль/кг. В контрольной группе в те же временные интервалы вводился раствор тилозы. Фенитоин оказывал отчетливое влияние на ВГТКС, достоверно уменьшая их число. Так, в дозе 50 мг/кг фенитоин снижал число ВГТКС в 2,4 раза, а в дозе 100 мг/кг – в 2,6 раз (рис. 4). При этом у 40% животных после введения фенитоина в дозе 50 мг/кг ГТКС полностью отсутствовали, однако на ЭЭГ отмечались разряды

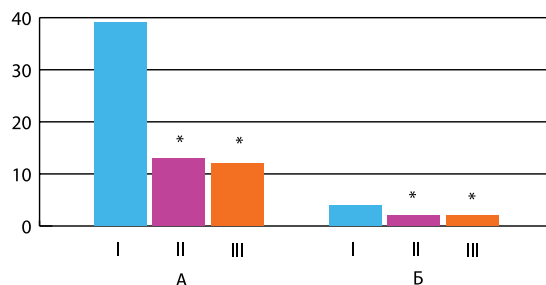


Рисунок 4. Влияние фенитоина на количество генерализованных тонико-клонических приступов. По оси ординат – количество приступов вторично-генерализованных тонико-клонических судорог (ВГТКС). А - общее число ВГТКС в группе за 30 минут, Б - среднее число ВГТКС для крысы. I – контроль (тилоза), II – фенитоин 50 мг/кг, III – фенитоин 100 мг/кг.

* – достоверность различий с контролем при $p \leq 0,05$.

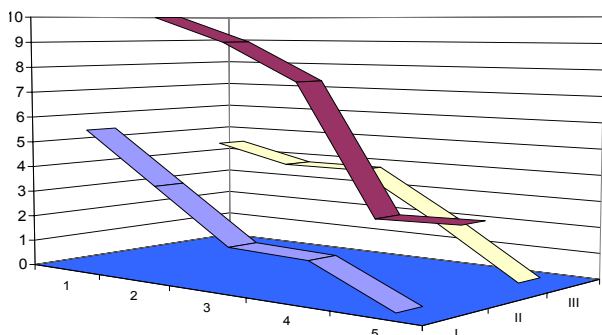


Рисунок 5. Динамика изменения количества приступов генерализованных тонико-клонических судорог после введения фенитоина.

По оси ординат – число животных, по оси абсцисс – порядковый номер приступа. I – контроль (тилоза), II – фенитоин 50 мг/кг, III – фенитоин 100 мг/кг.

пароксизмальной активности длительностью более 2 сек., разряды острых высокоамплитудных тета- и дельта-волн, генерализованные по всем исследуемым структурам.

Анализ динамики изменения числа ВГТКС показал, что в контрольной группе после введения тилозы первый и второй приступ ВГТКС наблюдались у всех животных, третий – у 90% крыс, а четвертый и пятый приступы ВГТКС – у 50% животных. Под влиянием фенитоина в дозах 50 мг/кг первый и второй приступы отмечались у 60% крыс, третий – у 40% животных, а пятый приступ отсутствовал (рис. 5).

Фенитоин оказывал выраженное влияние на распространение судорожной активности и прерывал развитие серии приступов ВГТКС. При этом противосудорожный эффект проявлялся как по данным ЭЭГ, так и по моторным показателям. В дозе 50 мг/кг фенитоин уменьшал количество ВГТКС, и их продолжительность, увеличивал межприступные интервалы. Одновременно с этим фенитоин в данной дозе снижал моторные проявления судорожного приступа и нарушения двигательного поведения в межприступные периоды и не вызывал летальных исходов. Фенитоин в дозе 100 мг/кг также обладал противоэпилептической активностью, прерывая развитие ВГТКС, но, в сравнении с действием фенитоина в меньшей дозе, он способствовал развитию бокового положения и увеличивал число животных с летальным исходом.

Оценивая действие препаратов на ведущую структуру эпилептической системы, следует отметить, что применение депакина и мексидола вызывало подавление активности гипоталамических очагов, в то время как использование комбинации этих препаратов приводило к подавлению активности и зеркального коркового очага.

Таким образом, следует подчеркнуть, что в экспериментальном исследовании комбинированное применение депакина в дозе 20 мг/кг и мексидола в дозе 50 мг/кг по эффективности существенно превышало

применение монотерапии депакином даже в дозе 30 мг/кг. Мексидол оказывал отчетливое потенцирующее действие на противосудорожные эффекты депакина, полностью предотвращая развитие вторично-генерализованных тонико-клонических судорог у 90% животных. Комбинированное применение депакина с мексидолом в эксперименте позволило снизить дозу депакина с усилением противосудорожного эффекта.

Влияние карбамазепина (20 мг/кг) на ЭПА в начальной стадии развития ЭС.

Влияние карбамазепина на эпилептиформную активность мозга крыс в начальный период развития эпилептогенного очага изучалось через 24–48 часов после аппликации кобальта на поверхность коры. В этот период в электрограммах всех исследуемых областей отмечается большое число отдельных острых высокоамплитудных волн, пиков, а также синхронно возникающих пароксизмальных разрядов. Большое число острых волн и пиков в отведениях латерального гипоталамуса и дорзального гиппокампа может свидетельствовать о наличии раздражения в этих образованиях мозга, обусловленной операцией.

Анализ изменений общей длительности эпилептических разрядов и их числа после однократного введения карбамазепина показал, что на первой стадии формирования ЭС карбамазепин уменьшает как число эпилептических разрядов, так и их длительность. Наибольший эффект наблюдается в корковых очагах, тогда как в электрограммах латерального гипоталамуса и дорзального гиппокампа различия не достигают достоверных различий с уровнем контроля. Изменения показателей судорожной активности в корковых очагах достигают достоверных различий через час после введения препарата и сохраняются в течение 4 часов.

Влияние карбамазепина (20 мг/кг) на ЭПА во второй стадии развития ЭС.

Отмечено, что однократное применение карбамазепина в дозе 20 мг/кг на второй стадии развития ЭС, при стойко сформированной генерализованной ЭПА, вызывает достоверное уменьшение длительности эпилептических разрядов во всех исследуемых структурах. Эффект наступает через 30 минут после введения препарата и достигает максимальных значений через 3 часа. Таким образом, на второй стадии развития ЭС карбамазепин оказывает более выраженное действие на длительность эпилептических разрядов, чем в начальной стадии формирования ЭС.

Влияние афобазола (5 мг/кг) на характер ЭПА в начальной стадии развития ЭС. Однократное применение афобазола в дозе 5 мг/кг у крыс с кобальтовым эпилептогенным очагом в сенсомоторной области коры в начальной стадии развития ЭС вызывает изменения ЭПА, зависящие от времени экспозиции препарата. В первые 30 минут после введения вещества отмечается незначительное снижение длительности разрядов в минуту во всех ис-

следуемых структурах, кроме латерального гипоталамуса. Через 1 час после введения афобазола отмечается тенденция к увеличению этого показателя, однако через 2 часа начинается уменьшение длительности разрядов во всех исследуемых структурах. К 3-му часу отмечается снижение интенсивности ЭПА ниже контрольного уровня в электрограммах контралатерального полушария коры и латерального гипоталамуса. Наиболее резистентной к действию афобазола остается ЭПА в электрограммах дорзального гиппокампа. Через 4 часа после введения препарата длительность ЭПА увеличивается несколько выше контрольного уровня во всех исследуемых структурах.

Однократное введение афобазола в дозе 5 мг/кг вызывало увеличение числа разрядов в минуту в первый час действия вещества, наиболее выраженное в отведениях дорзального гиппокампа и латерального гипоталамуса. Через 2 часа после введения вещества число разрядов во всех исследуемых структурах, кроме ипсилатеральной коры, уменьшалось, в отведениях латерального гипоталамуса снижалось достоверно ниже контрольного уровня. Через 3 часа после введения вещества значительное снижение числа разрядов отмечалось во всех отведениях кроме дорзального гиппокампа. Через 4 часа эти показатели возвращались к контрольному уровню. Анализ действия афобазола на длительность одного разряда показал, что в первые 2 часа после введения вещества вызывает уменьшение этого показателя во всех исследуемых структурах. Через 3 часа после введения вещества длительность одного разряда увеличивается до контрольного уровня в гиппокампограммах и кортикограммах контралатерального полушария, а в кортикограммах ипсилатерального полушария этот показатель превышает контрольные значения. Через 4 часа длительность одного разряда в электрограммах латерального гипоталамуса также увеличивается выше контрольного значения, но в кортикограммах контралатерального полушария и гиппокампограммах остается на уровне контроля.

Таким образом, проведенные исследования показали, что влияние афобазола на эпилептиформную активность мозга крыс с кобальтовым эпилептогенным очагом в сенсомоторной коре в начальной стадии развития ЭС зависит от времени действия вещества. Первые два часа после введения афобазола отмечается уменьшение длительности отдельных разрядов во всех исследуемых структурах и одновременно увеличение числа разрядов в кортикограммах ипси и контралатерального полушарий. Этот факт свидетельствует о том, что в это время происходит дробление разрядов на более мелкие, что сопровождается асинхронностью их возникновения. Через 3 часа после введения препарата число разрядов во всех исследуемых структурах уменьшается, однако в кортикограммах ипсилатерального полушария дли-

тельность одного разряда увеличивается к этому времени выше контрольного уровня. Можно предположить, что в начальной стадии развития ЭС очаг ЭПА в ипсилатеральном полушарии является детерминантным, что затрудняет фармакологическое действие на него.

Клиническое исследование

Исследования проведены у 97 пациентов с эпилепсией, относящихся, по Международной классификации эпилепсий, эпилептических синдромов и схожих заболеваний (1989 год, Нью-Дели, Индия), к группе 3 – «формы эпилепсии, не имеющие четкой классификации, как парциальные или генерализованные»; подгруппе 3.1. – «имеющие как генерализованные, так и парциальные проявления»; классу «другие неклассифицируемые формы эпилепсии, не определенные выше». Возраст пациентов варьировал от 20 до 54 лет и в среднем составлял $35,9 \pm 10,1$ лет. Мужчин было 54, женщин – 43 человека. Длительность заболевания колебалась от 8 месяцев до 5 лет. В контрольную группу вошли 20 здоровых испытуемых, сопоставимых по полу и возрасту с группой пациентов. Исследование неврологического статуса проводилось по общепринятой схеме (Гусев Е.И. и др., 1988). Всем пациентам проводились компьютерная ЭЭГ и фармако-ЭЭГ исследования, магнитно-резонансная томография (МРТ) или компьютерная томография (КТ). Наблюдение за пациентами продолжалось два года. Все пациенты получали монотерапию препаратом депакин-хроно 500 в индивидуально подобранных дозах. Через два года наблюдения, исходя из задач работы, более углубленное исследование проводилось 49 пациентам, у которых на фоне проводимой монотерапии депакином-хроно 500 хотя бы 1 раз за последнее полугодие наблюдения отмечалась вторичная генерализация припадков. Для определения типа эпилептического припадка у данных пациентов использовалась Международная классификация эпилептических припадков (ILAE, 1981). Запись ЭЭГ велась в течение 5-10 минут на фоне контроля уровня бодрствования. Применялся монополярный способ отведения потенциалов с размещением индифферентных электродов на мочках ушей. Электроды располагались по международной системе «10-20» (Jasper Н.Н., 1958) с охватом основных зон полушарий мозга. В качестве референтных использовали электроды на мочках ушей (A1-A2). Помимо фонового исследования выполнялись функциональные пробы – гипервентиляция, фотостимуляция. Использовались цифровые нейрографы: 16-канальный «Нейросенсор» и 19-канальный «БИОСС» (Россия), работающие на базе IBM компьютера с установленными фильтрами на 32 Гц и постоянной времени 0,03.

Дизайн исследования.

1. Фоновая запись ЭЭГ – депакин-хроно 500мг – 4 часа – контрольное ЭЭГ исследование.

2. Фоновая запись ЭЭГ – мексидол 5%-2 мл (100 мг) внутримышечно – 30 минут – контрольное ЭЭГ исследование.

3. Фоновая запись ЭЭГ – мексидол 5%-2 мл (100 мг) внутримышечно – 30 минут – депакин-хроно 500 мг – 4 часа – контрольное ЭЭГ исследование.

Далее в течение 10 дней пациентам проводились внутримышечные инъекции мексидола 5%-2 мл (100 мг) за 30 минут до приема депакина-хроно 1 раз в сутки. Через 10 дней комбинированного приема мексидола и депакина-хроно по описанной выше схеме проводилась контрольная запись ЭЭГ через 4 часа после последнего приема депакина-хроно.

Компьютерный анализ ЭЭГ осуществлялся с помощью программы «BRAINSIS» (автор – А.А. Митрофанов, Россия) с проведением спектрального и корреляционного анализа ЭЭГ и статистической обработки полученных результатов. Сравнительный статистический анализ когерентности различных групп с использованием параметрических критериев (критерий Стьюдента) проводили с использованием нормализованных коэффициентов когерентности. Анализ пароксизмальной активности осуществлялся методом локализации эквивалентных дипольных источников с применением программы «BRAINLOC» (Нейрософт, Россия).

Проводимое фоновое электроэнцефалографическое исследование позволило разделить всех пациентов, вне зависимости от типов припадков и форм эпилепсии, по типу ЭЭГ на 4 группы:

- с хорошо представленным регулярным альфа-ритмом с выраженными амплитудными модуляциями и нормальным зональным распределением;
- с наличием фрагментарного и/или слабо модулированного альфа-ритма с сохранными зональными различиями;
- с дезорганизацией ЭЭГ по основному ритму и отсутствием регионарных различий на ЭЭГ;
- с отсутствием на ЭЭГ альфа-ритма и низкоамплитудной биоэлектрической активностью («плоские» ЭЭГ).

У 32,6% пациентов в электроэнцефалограммах преобладал фрагментарный и/или слабо модулированный альфа-ритм с сохранными зональными различиями. Статистический анализ когерентных связей пациентов с эпилепсией не выявил четких корреляций между типом ЭЭГ и уровнем когерентности. Вместе с тем было отмечено, что, независимо от типа ЭЭГ, по характеру когерентных связей пациентов можно разделить на две группы: с исходно высоким и исходно низким уровнем когерентности (рис. 6).

Общим для обеих групп пациентов было усиление когерентности для центрально-височных связей левого полушария, что, с одной стороны, может быть обусловлено доминантностью левого полушария у всех обследованных пациентов, с другой – может быть характерно для пациентов с вторично-генерализованной эпилепсией. Анализируя влияние

вальпроата натрия (депакина-хроно) в дозе 500 мг, можно отметить, что у всех пациентов, независимо от типа исходной биоэлектрической активности, под влиянием вальпроата наибольший прирост спектра в диапазоне альфа-частот отмечался для пика 10-12 Гц, что свидетельствовало о смещении альфа-активности в сторону более высоких частот. Характерным также было незначительное усиление модулированности альфа-активности, удлинение ее веретена, уменьшение представленности медленных волн и ослабление разрядной активности. Статистический анализ этих данных показал, что мощность спектра ЭЭГ у пациентов 2-й и 4-й групп увеличивалась достоверно в области альфа-диапазона, тогда как у пациентов 1-й и 3-й групп эти изменения не были достоверны. То есть влияние вальпроата натрия на изменение спектра мощности ЭЭГ было более значимо у пациентов с недостаточно выраженным альфа-ритмом. Редукция пароксизмальных разрядов под влиянием вальпроата у пациентов 2-й и 3-й групп сопровождалась ослаблением эквивалентных дипольных источников в лимбико-гипоталамических структурах, особенно справа (рис. 7). На этом фоне отмечалась тенденция к перемещению эквивалентных дипольных источников в левую гемисферу. Можно предположить, что под влиянием вальпроата натрия происходило угнетение вторичных очагов правого полушария и растормаживание детерминантных очагов левого полушария.

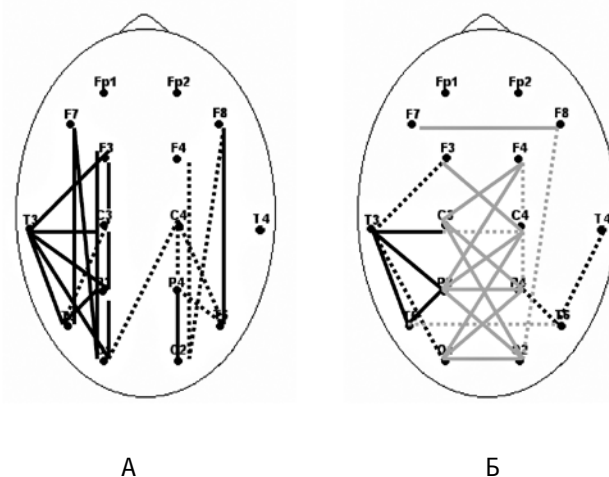


Рисунок 6. Диаграммы показателей когерентности по тета-активности у больных с исходно высокими (А) и исходно низкими (Б) значениями когерентности.

Черными линиями отмечены пары отведений, для которых показатели когерентности у пациентов с эпилепсией выше, чем у здоровых испытуемых.

Серыми линиями отмечены пары отведений, для которых показатели когерентности у пациентов с эпилепсией ниже, чем у здоровых испытуемых.

— — различия достоверны при $p \leq 0,001$;

----- различия достоверны при $p \leq 0,05$.

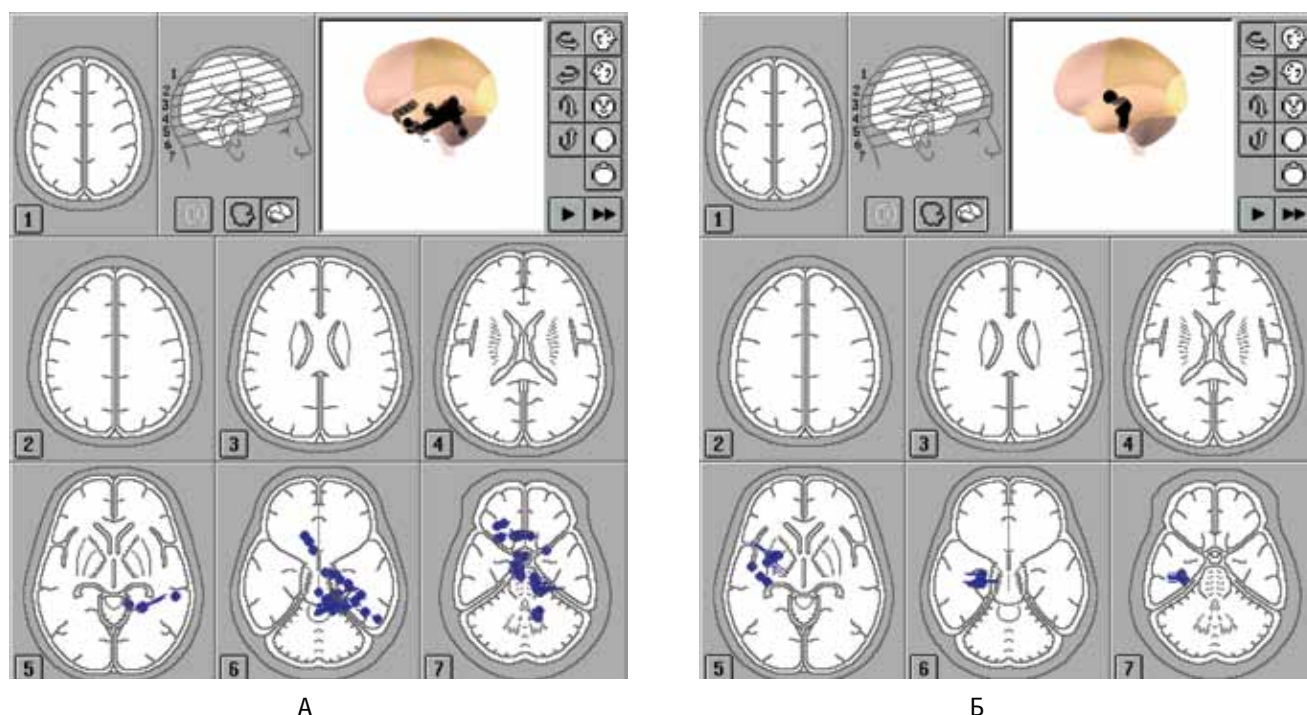


Рисунок 7. Локализация эквивалентных дипольных источников исходной пароксизмальной тета-активности (А) и пароксизмальной тета-активности через 4 часа после приема вальпроата натрия 500 мг (Б).

Анализ эквивалентных дипольных источников пароксизмальной активности пациентов с исходно «плоским» типом ЭЭГ, показал, что при применении вальпроата натрия разряды групп тета-волн, генерируемые из таламо-гипоталамической области, сохранялись, тогда как источник разрядной тета-активности в стволово-мозжечковых структурах депрессировался, что, в данном случае, позволило предположить детерминантность таламо-гипоталамических очагов.

При применении мексидола (100 мг), также как и вальпроата натрия, у всех пациентов отмечался прирост спектра в диапазоне альфа-частот, наиболее выраженный для пика 10-12 Гц, что свидетельствовало о смещении альфа-активности в сторону более высоких частот. Характерным было незначительное увеличение процентного содержания альфа-активности, уменьшение представленности тета- и дельта-волн и ослабление разрядной активности. Статистический анализ полученных данных показал, что изменения спектра мощности ЭЭГ у пациентов 1-й, 2-й и 4-й групп не достигали достоверных значений, тогда как у пациентов 3-й группы отмечались достоверные различия в области альфа- и бета-диапазонов в сторону увеличения, т.е. эффекты мексидола на спектр мощности ЭЭГ были более выражены у пациентов с дезорганизованной биоэлектрической активностью. Под влиянием мексидола редукция пароксизмальных разрядов, оцениваемая методом эквивалентных дипольных источников, сопровождалась для пациентов первой группы ослаблением зоны генерации эквивалентных дипольных источников тета-активности в лимбико-стволовых структурах и перемещением зоны генерации дельта-

активности в передне-височные отделы правой гемисферы головного мозга. Сходные изменения наблюдались у пациентов второй группы, однако для них характерным было перемещение зоны генерации дельта-активности в левую гемисферу. У пациентов третьей группы редукция пароксизмальных разрядов под влиянием мексидола сопровождалась ослаблением эквивалентных дипольных источников для тета- и дельта-активности в лимбико-гипоталамических структурах и усилением зон генерации альфа-активности, отмечалась тенденция к перемещению эквивалентных дипольных источников в стволовые структуры мозга. У пациентов четвертой группы разрядная тета-активность, генерируемая в таламо-гипоталамической области, депрессировалась, а источник разрядной тета-активности в височно-мозжечковых структурах сохранялся.

При однократном комбинированном применении вальпроата натрия 500 мг и мексидола 100 мг у всех пациентов было отмечено усиление альфа-активности. У пациентов первой группы отмечалось уменьшение диффузных медленных волн в диапазоне тета- и дельта-частот, увеличение амплитуды альфа-активности и удлинение альфа-веретен преимущественно в теменно-затылочных отведениях, что приводило к усилению зональных различий. Это дополнительно подтверждалось статистическим анализом изменений спектрограмм мощности ЭЭГ, показавшим достоверное уменьшение мощности спектра в диапазоне тета-частот в теменно-центрально-затылочных отведениях правого полушария. Для пациентов второй группы динамика ЭЭГ также была направлена в сторону усиления альфа-активности и

	C3	C4	P3	P4	O1	O2	T3	T4	T5	T6
Мощность (%) дельта-ритм	-1,6	-2,6*	-2,2*	-3*	-1,9	-2,7*	-1,5	-1,5	-1,2	-2,1
Мощность (%) тета-ритм	-4,7**	-3,8**	-8,1**	-7,2**	-3,4**	-6,0**	-5,6**	-3,5**	-4,6**	-3,4**
Мощность (%) альфа-ритм	1,2	2,8*	2,3*	3,4*	1,1	2,4*	0,47	1,6	0,63	1,7
Мощность (%) бета1-ритм	3,6**	3,8**	3,5**	3,9**	3,6**	4,8**	4,8**	4,9**	5,5**	3,5**

Таблица 1. Изменение мощности спектра после курсового приема мексидола 100 мг и вальпроата натрия в четвертой группе пациентов. * – достоверные значения при $p \leq 0,05$; ** – достоверные значения при $p \leq 0,01$.

угнетения диффузной медленной активности в диапазоне тета- и дельта-частот. Статистический анализ показал, что уменьшение мощности спектра в диапазоне тета-частот достигало достоверных значений в лобно-теменных отделах обоих полушарий. У пациентов третьей группы имелась тенденция к нормализации организованности биопотенциалов мозга, значительному угнетению тета- и дельта-активности. Сходные изменения были характерны и для пациентов четвертой группы. Статистический анализ спектрограмм мощности ЭЭГ показал достоверное уменьшение мощности спектра в диапазоне дельта-частот почти во всех отведениях и нарастание мощности спектра в диапазоне альфа-частот в теменно-затылочных отведениях.

Анализ эквивалентных дипольных источников показал значительное угнетение пароксизмальной активности во всех диапазонах с сохранением индивидуальных зон генерации. Десятидневное курсовое применение комбинации вальпроата натрия и мексидола

приводило к наиболее выраженным изменениям биоэлектрической активности. Статистический анализ данных показал, что увеличение мощности спектра ЭЭГ в диапазоне альфа-частот у пациентов 1-й, 2-й и 4-й групп достигало достоверных значений (табл. 1), тогда как у пациентов 3-й группы изменения мощности спектра в диапазоне альфа- и бета-частот не достигали достоверных различий.

Вместе с тем, снижение мощности спектра в диапазоне дельта- и тета-частот достигало достоверных различий для всех групп пациентов (табл. 1), т. е. изменения в спектре мощности ЭЭГ под влиянием курсового комбинированного применения мексидола и вальпроата были обусловлены, в основном, влиянием на патологические знаки. Изучение пароксизмальной активности методом эквивалентных дипольных источников показало, что генераторы разрядной тета-активности после курсового комбинированного применения мексидола и вальпроата редуцировались у пациентов всех групп (рис. 8), тогда

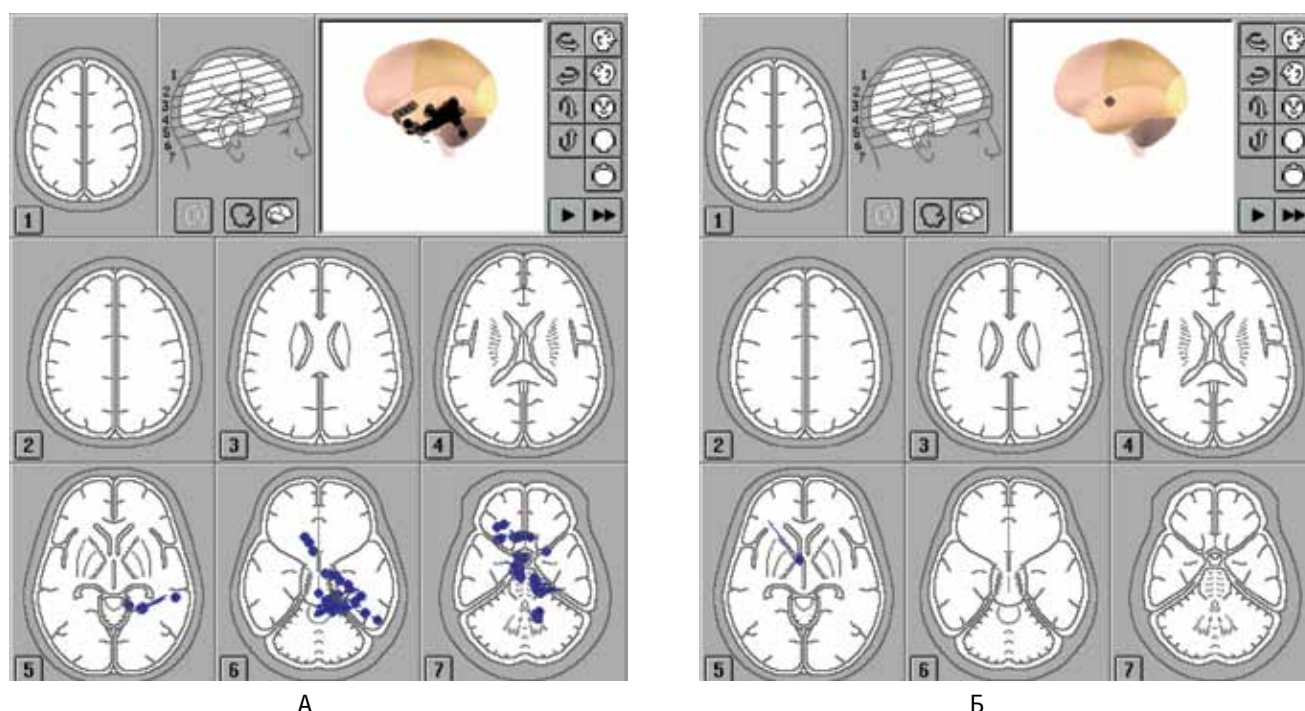


Рисунок 8. Локализация эквивалентных дипольных источников исходной пароксизмальной тета-активности (А) и пароксизмальной тета-активности после курса комбинированного приема вальпроата натрия и мексидола (Б).

как источники дельта-активности угнетались в меньшей мере. Это дало основание предположить, что эффекты курсового комбинированного применения мексидола и вальпроата натрия направлены, в первую очередь, на функциональные взаимоотношения между структурами, вовлеченными в эпилептическую систему.

Таким образом, можно отметить, что депримирующие эффекты вальпроата натрия отчетливо проявлялись у пациентов с различной степенью представленности альфа-ритма (1, 2 и 3 группы) и менее выражены у пациентов с «плоским» типом ЭЭГ (4 группа). Под влиянием вальпроата натрия происходило угнетение лимбико-гипоталамических и стволово-мозжечковых зон генерации пароксизмальной активности. При этом имела тенденция к перемещению зон генерации в левое полушарие, что может быть связано с растормаживанием детерминантных очагов левого полушария при угнетении вторичных очагов.

В отличие от вальпроата, мексидол оказывал заметное угнетающее влияние на таламо-гипоталамические очаги пароксизмальной активности пациентов 4 группы.

Комбинированное применение вальпроата натрия и мексидола в течение 10 дней (курс) приводило к появлению качественно новых эффектов. У пациентов 1, 2 и 3 групп отмечалась почти полная редукция пароксизмальной активности, сопровождающаяся угнетением почти всех зон ее генерации. При этом генератор тета-активности угнетался больше, чем генератор дельта-активности. У пациентов 4 группы, напротив, генератор дельта-активности угнетался полностью, тогда как редукция зоны генерации тета-активности была несколько слабее. Изменения пространственной организации биопотенциалов под влиянием исследуемых препаратов, определяемые с помощью когерентного анализа ЭЭГ, были наиболее показательны для определения эффективности препаратов и зависели, в первую очередь, от исходного уровня когерентности (КОГ). Сопоставляя эффекты вальпроата и мексидола на показатели КОГ пациентов можно отметить, что эффекты этих препаратов на межцентральные связи обеих групп, а также для внутриполушарных и межполушарных пар отведений пациентов второй группы имели сходный характер. У пациентов первой группы, с исходно высокими показателями КОГ, эффекты вальпроата натрия и мексидола на внутриполушарные связи были неоднозначны: вальпроат снижал уровень КОГ левой гемисферы, а мексидол – увеличивал. Однократное комбинированное применение мексидола и вальпроата натрия у пациентов первой группы вызывало изменения пространственной организации биопотенциалов, схожее с эффектами мексидола и отличалось от эффектов вальпроата, а у пациентов второй группы приводило к кумуляции, что выражалось в достоверном увеличении показателей КОГ для боль-

шинства внутри- и межполушарных пар отведений.

Десятидневное комбинированное применение мексидола 100 мг (2 мл 5% раствора) и вальпроата натрия у пациентов второй группы привело к существенному усилению эффектов вальпроата на пространственную организацию биопотенциалов с нормализацией сниженных ранее показателей когерентности и достоверного ослабления связей в левой височной области (рис. 9.Б), а у пациентов первой группы выявило тенденцию к снижению КОГ для полюсно-полюсных пар левого полушария, чего не наблюдалось при раздельном приеме препаратов, кроме того, значительно сократилось число внутри- и межполушарных пар отведений с высокими показателями КОГ (рис. 9 А).

Таким образом, эффекты комбинированного применения мексидола и вальпроата натрия во второй группе приобретали характер, сходный с эффектами у пациентов первой группы, и имели нормализующий характер. Следует отметить, что в течение полугода после проведения 10-дневного курса дополнительного применения мексидола 100 мг (2 мл 5% раствора внутримышечно за 30 минут до приема вальпроата натрия) вторичная генерализация припадков не отмечалась ни у одного из 49 пациентов, а исходная частота припадков стала реже более чем на 50 % у 12 больных.

Таким образом, можно еще раз подчеркнуть высокую эффективность и патогенетическую оправданность курсовой комбинированной терапии мексидолом и депакином, подтвержденную эксперименталь-

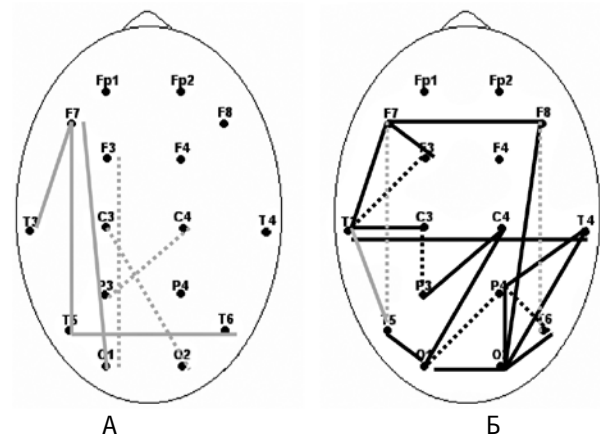


Рисунок 9. Изменение показателей когерентности через 10 дней комбинированного приема мексидола 100 мг и вальпроата натрия у пациентов с исходно высоким (А) и низким (Б) уровнем когерентности.

Черными линиями обозначены пары отведений, для которых отмечалось увеличение показателей КОГ по сравнению с фоновой записью. Серыми линиями обозначены пары отведений, для которых отмечалось уменьшение показателей КОГ по сравнению с фоновой записью.

- – $p \leq 0,05$;
- – $p \leq 0,001$.

	Экспериментальное исследование	Клиническое исследование
Под влиянием депакина	Гипоталамус теряет роль ведущей структуры	Происходит угнетение лимбико-гипоталамических зон генерации пароксизмальной активности
Под влиянием депакина, мексидола и их комбинации	Отмечается снижение частоты и длительности разрядов пароксизмальной активности	Отмечается уменьшение пароксизмальной активности и ослабление или угнетение зон ее генерации
Только под влиянием комбинированной терапии мексидолом и депакином	Происходит угнетение коркового очага	Происходит ослабление когерентных связей в левой височной области.
Совместное применение депакина и мексидола	Позволяет предотвратить появление вторично-генерализованных тонико-клонических судорог после введения нейротоксина у 90% животных.	Позволяет предотвратить появление вторично-генерализованных припадков у пациентов с эпилепсией
Использование комбинации депакина с мексидолом	Позволяет получить не только потенцирование действия препаратов, но и качественно новые эффекты.	

Таблица 2. Сопоставление результатов экспериментальных и клинических исследований.

ными и клиничко-нейрофизиологическими исследованиями.

Сопоставляя результаты клинических и экспериментальных исследований, можно проследить ряд корреляций (2).

Основные выводы проведенного клиничко-экспериментального исследования:

1. Для формирования вторично-генерализованных припадков необходимо развитие стойкой эпилептической системы с обязательным вовлечением подкорковых структур, в первую очередь гипоталамуса, являющегося ведущей детерминантной структурой.
2. Доказана избирательность действия антиконвульсанта депакина-хроно в дозе 30 мг/кг в эксперименте на гипоталамические структуры. Применение антиоксиданта мексидола в дозе 50 мг/кг в эксперименте позволяет снизить эффективную дозу антиконвульсанта депакина-хроно на 33,3%.
3. Показана значимость гипоталамуса как ведущей (детерминантной) структуры патологической эпилептической системы при формировании вторично-генерализованных припадков.
4. Выявлена избирательность действия антиконвульсанта депакина на гипоталамические структуры, а комбинация с мексидолом значительно расширяет спектр его действия, в том числе и на первичные корковые очаги.
5. Комбинированное применение антиконвульсанта (депакина-хроно) и антиоксиданта (мексидола) позволяет:
 - a. снизить дозу антиконвульсанта на 33% в эксперименте;
 - b. усилить эффект антиконвульсанта;
 - c. расширить спектр воздействий препарата, в том числе путем нормализации когерентных связей;
 - d. предотвратить появление токсических побочных эффектов антиконвульсантов;
 - e. улучшить качество жизни пациента.

Экспериментальные исследования показали, что

мексидол обладает выраженным противосудорожным действием и оказывает отчетливое влияние как на первично-генерализованную эпилептиформную активность, так и на эпилептиформную активность мозга крыс с хроническим эпилептогенным очагом, а также потенцирует действие противосудорожных средств (Л.Н. Неробкова, 1995; Алиев А.Н., 1987; Воронина Т.А., 1998). В клиничко-экспериментальных исследованиях была показана высокая эффективность комбинированного применения карбамазепина и мексидола при парциальной эпилепсии (Г.Н. Авакян, О.Л. Бадалян, 1998).

Поскольку структурно-функциональные изменения в мембране усиливаются при повторном применении мексидола, наиболее значимые потенцирующие эффекты антиоксиданта на действие вальпроата наблюдаются при курсовом применении этих препаратов. Кроме того, мексидол может явиться средством профилактики и лечения многих побочных эффектов вальпроатов. В эксперименте показано, что мексидол оказывает выраженное позитивное влияние на когнитивные функции, улучшая процессы обучения и памяти (Т.А. Воронина и соавт., 1986; Т.А. Воронина, 2001; Т.А. Воронина, 1994). Таким образом, можно подчеркнуть высокую эффективность и патогенетическую оправданность курсовой комбинированной терапии мексидолом и вальпроатом натрия, подтвержденную экспериментальными и клиничко-нейрофизиологическими исследованиями.

Основные положения:

1. Показана значимость гипоталамуса как ведущей (детерминантной) структуры патологической эпилептической системы при формировании вторично-генерализованных припадков.
2. Выявлена избирательность действия вальпроата натрия и мексидола на гипоталамические структуры. Показано, что комбинация вальпроата с мексидолом значительно расширяет спектр его действия на структуры мозга, в том числе и на корковые очаги.

3. Комбинированное применение вальпроата натрия и мексидола позволяет снизить дозу антиконвульсанта на 33,3% и усилить эффект; расширить спектр воздействий препарата, прежде всего путем нормализации когерентных связей, предотвратить появление побочных эффектов антиконвульсанта, улучшить качество жизни пациента.

Несмотря на достижения в эпилептологии и многочисленные клиничко-нейрофизиологические, биохимические, морфологические исследования, эпилепсия до сих пор остается не до конца изученным заболеванием со сложными диагностикой, подбором препаратов, а также низкой возможностью предикции эффективности и безопасности терапии для конкретного пациента. Это обстоятельство определяет актуальность изучения фармакогенетических аспектов эпилепсии.

Фармакогенетические аспекты терапии эпилепсии

Фармакогенетика – направление науки, стоящее на стыке двух дисциплин – фармакологии и генетики, и позволяющее оптимизировать тактику ведения пациента на основании его генетического профиля. Исходя из представленных на сегодняшний день методологий фармакогенетики, можно выделить следующие уровни организации комплексного изучения эпилепсии (Рис. 10), что, в целом, применимо и для ряда других заболеваний. Более того, данный подход используется также для поиска, создания и скрининга новых противоэпилептических препаратов.

Многие исследователи склоняются к мысли, что фармакогенетика должна стать одним из первых продуктов проекта генома человека и проекта картирования гаплотипа для достижения клинической пользы (Stephen B. Liggett, 2001). Быстрое развитие компьютерных технологий, протеомики, геномики и молекулярной биологии позволяют использовать комплексный подход для определения корреляции между генетическим полиморфизмом и клиничес-

ким эффектом терапии. Согласно Е.А. Вальдман (2008) «Отбор фенотипов для генетического анализа, анализ комплексного фенотипа, подтверждение наследуемости, проведение фармакогеномного анализа, выявление генетических вариантов, ассоциированных с фенотипом, – все это позволяет выявить гены-кандидаты, регулирующие известные звенья патофизиологического процесса или вовлеченные в молекулярный механизм действия препаратов, применяемых для лечения данного заболевания».

Техника микроэреция, в которой используются образцы тканей, также является фармакогенетическим подходом *in vitro*, особенно актуальным в том случае, если соответствующие ткани – терапевтические мишени – просто и легкодоступны. Однако существует, как минимум, два барьера к широкому применению данного метода. Так, во-первых, во многих ситуациях наблюдается комплексный вклад множества тканей и органов в терапевтический ответ, что осложняет интерпретацию результатов. Во-вторых, необходимо учитывать инструментальную сложность в выделении некоторых соответствующих тканей из объекта (головной мозг). Среди методов *in vitro*, используемых в рамках фармакогенетических исследований, стоит также отметить цито-гистологические методики с введением различных культур тканей, включающих в себя бессмертные клеточные линии, эмбриональные и взрослые стволовые клетки, органо-типические культуры. Для токсикологического анализа *in vitro* существуют бактериальные, дрожжевые, протозойные системы, а также клеточные линии млекопитающих или человека. Они могут быть статичными или перфузируемыми и могут использоваться как самостоятельно, так и внутри батареи тестов (Knight A., 2008; Guillouzo A., Guguen-Guillouzo C., 2008).

Таким образом, комбинация фармакогеномики и биоинформатики, наряду с цито-гистологическими методами, позволяет выявить ассоциацию между генетическим полиморфизмом и индивидуальной реакцией на терапию уже на первом уровне иерархии



Рисунок 10. Диаграмма методов фармакогенетики, соотносящихся с уровнями изучения заболевания и поиском новых лекарственных препаратов.

организации фармакогенетических исследований. Заслуживает интереса тот факт, что парадигмой современной фармакогенетики стало положение о том, что основной формой наследственного различия между людьми является точечный (однонуклеотидный) полиморфизм – SNP (single nucleotide polymorphism). Таким образом, геномический подход, основанный на SNP, представляется наиболее перспективным в развитии фармакогенетики (Weber W.W., 2001; Johnson J.A., Evans W.E., 2002; Evans W.E., Johnson J.A., 2001).

Существует целый ряд работ, указывающих на то, что генетический полиморфизм играет центральную роль в фармакокинетике и фармакодинамике ПЭП (Loscher 2008; Середенин, 2004; Maeda K., Sugiyama Y., 2008; Ieiri I. et al., 2006). SNP представляет собой наиболее часто распространенный полиморфизм в человеческом геноме (около 90% от всей геномной вариативности), который может влиять на эффективность, переносимость, безопасность и длительность действия противосудорожных препаратов (Раменский В.Е., Сюняев Ш.Р., 2008). Как следует из названия, SNP представляют собой единичные вариации оснований, которые наблюдаются как минимум у 1% населения, и которые потенциально могут влиять на структуру и функцию белков, кодируемых данным геном. Однако большинство SNP в кодирующих участках генов элиминируется вследствие процесса репарации ДНК и в результате действия естественного отбора, так как данные мутации могут приводить к серьезным нарушениям структуры кодируемого белка (Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005). Таким образом, синонимичные SNP в экзонах, приводящие к замене аминокислоты, наблюдаются достаточно редко – лишь в 5 % случаев всех выявляемых точечных мутаций (Srinivasan BS et al., 2009). В качестве примера, иллюстрирующего вклад точечной мутации в функциональную активность белка, можно привести полиморфизм FABP2 (fatty acid binding protein) – внутриклеточного белка, связывающего жирные кислоты. Среди всех известных полиморфизмов гена I-FABP особого внимания заслуживает SNP замена во втором экзоне G163A, что приводит к изменению первичной структуры белка (Ala54Thr). В недавней работе было показано, что этот полиморфизм может влиять на эффективную дозу препаратов вальпроевой кислоты при терапии эпилепсии (Аксенова М.Ю. и соавт., 2007).

Большинство выявляемых SNP-полиморфизмов, как правило, затрагивают 5'- либо 3'-концевые регуляторные участки генов, (область промотора, энхансера итд), либо располагаются в интронах и не отражаются на аминокислотной последовательности транслируемого белка, так называемые нейтральные, молчащие мутации (Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005). В то же время, накапливаются свидетельства того, что некоторые нейтральные SNP способны регулировать скорость транскрипции генов,

стабильность мРНК и тем самым обуславливать повышение или уменьшение количества и уровня биологической активности синтезируемого пептида. Указанное явление получило название «функционального аллельного полиморфизма гена» (Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005).

Однако, в противоположность сложившемуся мнению о том, что молчащие SNP несут скорее «регуляторный» характер, в последнее время появились работы, указывающие на то, что даже нейтральные SNP мутации могут приводить к изменению в функциональных свойствах белкового продукта. Так, в работе Chava Kimchi-Sarfaty et al., (2007) было показано, что синонимичная SNP мутация в гене MDR1 (ген, кодирующий Р-гликопротеин), приводит к конечному белковому продукту с измененными функциональными свойствами относительно субстратов и ингибиторов. На фоне сходного уровня мРНК и экспрессии относительно белка дикого типа, полиморфный Р-гликопротеин характеризовался измененной конформационной структурой. Авторами была выдвинута гипотеза о том, что присутствие редкого кодона, маркированного синонимичным полиморфизмом, влияет на время котрансляционного фолдинга и встраивания Р-гликопротеина в мембрану, изменяя структуру сайта связывания с субстратом и ингибитором.

Таким образом, важной задачей настоящей декады является расширение базы SNP генов, ассоциированных с изменением функциональных свойств белков, что позволит индивидуализировать терапевтический подход, а также снизить риск возникновения побочных эффектов и повысить эффективность терапии. Помимо этого, понимание молекулярных принципов вариативности действия препаратов, позволит интегрировать фармакогенетические принципы в клиническую практику (Pirazzoli & Recchia, 2004; Kirchheiner et al., 2005; Lewis, 2005; Phillips & van Bebbber, 2005; Kalow, 2006; Goldstein et al., 2007; Lesko, 2007).

Большинство исследований сегодня посвящены изучению классических ПЭП – карбамазепина, фенитоина, вальпроевой кислоты [Loscher et al., 2008; Tate et al., 2005, 2006; Simon et al., 2007; Lazarowski et al, 1999, 2004, 2007], тогда как работ по изучению препаратов последнего поколения значительно меньше. Среди последних можно отметить исследование Аксеновой М.Г. и соавт, 2007, в которой была продемонстрирована зависимость эффективной дозы топирамата от полиморфизма C802T гена глюкуронозилтрансферазы.

ПЭП нового поколения при наличии сопоставимой с традиционными препаратами эффективности характеризуются меньшей частотой развития побочных реакций и в ряде случаев позволяют эффективно преодолевать фармакорезистентность. Однако и для них характерна индивидуальная вариативность доз и терапевтических эффектов, что позволяет счи-

тать актуальным оценку фармакогенетических особенностей ПЭП нового поколения с целью определения путей оптимизации фармакотерапии [Pegussa, 2001; Stefan, Feuerstein, 2007].

В нашей работе была предпринята попытка по идентификации и изучению полиморфизмов генов, участвующих в процессах фармакокинетики и фармакодинамики ламотриджина (Крикова Е.В., Вальдман Е.А., Авакян Г.Н. и соавт, 2007). В результате исследования было показано отсутствие значимого влияния полиморфизма Р24Т гена UGT1A4 (уридиндифосфат глюкуронозилтрансферазы) на эффективную дозу и концентрацию ламотриджина. Согласно данным 3D моделирования, процесс связывания лиганда не чувствителен к наличию замены Р24Т, так как данный полиморфизм располагается вне участка связывания субстрата и не влияет на эффективную дозу ламотриджина при терапии эпилепсии, что подтверждает полученные в исследовании экспериментальные данные. В проведенной работе была подтверждена гипотеза о наличии корреляции между генетическим полиморфизмом нейронального потенциал-зависимого натриевого канала SCN1IVS5N (5G>A) и эффективной дозой ламотриджина, а также выявлена корреляция зависимости пиковой концентрации препарата от генотипа SCN1.

Интересно отметить, что полученные в данном исследовании результаты позволяют говорить и о возможном вкладе полиморфизма SCN1IVS5N (5G>A) (rs3812718) в патогенез эпилепсии, что выражается в достоверно более высокой распространенности данного полиморфизма в гомозиготном состоянии среди больных эпилепсией по сравнению с контрольной выборкой европейской этнической группы. Таким образом, наличие замены SCN1IVS5N (5G>A) может обуславливать генетическую предрасположенность к заболеванию эпилепсией. При этом, в рамках кон-

цепции о значимом вкладе генетических факторов в развитие симптоматических и криптогенных форм заболевания, высокая частота встречаемости данного полиморфизма в группах симптоматической фокальной эпилепсии и криптогенной фокальной эпилепсии позволяет отнести ген SCN1 к генам-кандидатам для дальнейшего пристального изучения на уровне популяции.

В результате анализа гаплотипов исследуемой группы больных было установлено наличие неравновесного сцепления для всех четырех исследуемых генетических полиморфизмов гена SCN1A (rs3812718, rs2217199, rs2195144 и rs3812719) с наиболее высоким показателем LD (линкадж дезэквилибриум) для групп rs2195144-rs3812719 и rs3812718-rs2217199.

Итак, современные исследования в области фармакогенетики, проводимые отечественными и зарубежными учеными, позволяют выявить закономерности эффективности и безопасности противосудорожных препаратов от полиморфизма генов, кодирующих основные фармакологические процессы, что в будущем позволит максимально индивидуализировать лечение больных эпилепсией.

Таким образом, экспериментальные исследования эпилепсий, моделирование патологической эпилептической системы играет важную роль в понимании патогенеза, воспроизведении различных форм и типов эпилептических припадков. Именно на экспериментальных моделях возможно изучение основных «мишеней» и спектра воздействий базисных и новых противосудорожных препаратов, подбор доз, исследование возможных комбинаций препаратов. Фармакогенетические исследования позволяют прогнозировать эффекты различных противосудорожных препаратов у конкретного пациента с учетом индивидуальных наследственных характеристик.

Литература:

1. Аксенова М. Г., Бурд С. Г., Авакян Г. Н. и др. Ассоциация полиморфизма С802Т гена глюкуронозилтрансферазы с эффективной дозой топирамата // Журнал неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова: научно-практический рецензируемый журнал — 2007. — Том 107, N 5. — С. 63-64.
2. Аксенова М. Г., Качалин Е. Ю., Бурд С. Г., Авакян Г. Н., Бадалян О. Л., Савенков А. А., Тертышник О. Ю., Дорофеева М. Ю., Белоусова Е. Д., Гусев Е. И. Связь полиморфизма С3435Т гена MDR1 с эффективностью действия карбамазепинов // Медицинская Генетика, 6/2007, сс. 39-41.
3. Вальдман Е.А. Проблемы внедрения достижений фармакогеномики. Журнал «Ремедиум», № 3-2008
4. Карлов В.А. Детская эпилепсия как инструмент познания развивающегося мозга. // Журнал неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова – 2002, №5, с. 4-5.
5. Крикова Е.В, Вальдман Е.А, Авакян Г.Н., Андреев Я.А., Денисов Е.В, Ридер Ф.К., Биктимеров Р.Р., Чуканова А.С., Бурд С.Г Изучение ассоциации полиморфизма гена SCN1A с эффективной дозой ламотриджина // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова: научно-практический рецензируемый журнал. — 2009; том 10, с. 59-65
6. Раменский В.Е., Сюняев Ш.Р. Вычислительный анализ полиморфизма генома человека Молекулярная биология, 2009; том 43, N 2, с.286-294
7. Середенин С. Б. Лекции по фармакогенетике. 2004; М.: МИА.-303 с
8. Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005 Полиморфизм генов семейства IL-1 человека Журнал 'Цитокины и воспаление'. 2005; № 2
9. Arzimanoglou A, Hirsch E, Nehlig A, Castelnaud P, Gressens P, Pereira de Vasconcelos A. Epilepsy and neuroprotection: an illustrated review. *Epileptic Disord.* 2002; Sep;4(3):173-82
10. Evans WE, Johnson JA Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2001;2:9-39
11. Goldstein DB, Need AC, Singh R, Sisodiya SM. Potential genetic causes of heterogeneity of treatment effects. *Am J Med.* 2007; Apr;120(4 Suppl 1):S21-5.
12. Guillouzo A, Guguen-Guillouzo C. Evolving concepts in liver tissue modeling and implications for in vitro toxicology. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008; Oct;4(10):1279-94
13. leiri I, Takane H, Hirota T, Otsubo K, Higuchi S. Genetic polymorphisms of drug transporters: pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences in pharmacotherapy *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2006 Oct;2(5):651-74

14. Johnson JA, Evans WE. Molecular diagnostics as a predictive tool: genetics of drug efficacy and toxicity. *Trends Mol Med.* 2002 Jun;8(6):300-5
15. Kalow W. (2006) Pharmacogenetics and pharmacogenomics: origin, status, and the hope for personalized medicine. *Pharmacogenomics J.* May-Jun;6(3):162-5
16. Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, Sauna ZE, Calcagno AM, Ambudkar SV, Gottesman MM. A «silent» polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science.* 2007 Jan 26;315(5811):525-8. Epub 2006 Dec 21
17. Kirchheiner J, Fuhr U, Brockmüller J. (2005) Pharmacogenetics-based therapeutic recommendations--ready for clinical practice? *Nat Rev Drug Discov.* Aug;4(8):639-47
18. Knight A Non-animal methodologies within biomedical research and toxicity testing. *ALTEX.* 2008;25(3):213-31
19. Lazarowski A, Czornyj L., Lubienicki F, Girardi E, Vazquez S, D'Giano C. (2007) ABA transporters during epilepsy and mechanisms underlying multidrug resistance in refractory epilepsy. *Epilepsia* 48 Suppl 5:140-149.
20. Lazarowski A, Massaro M, Schteinschnaider A, Intruvini S, Sevlever G, Rabinowicz A. (2004) Neuronal MDR-1 gene expression and persistent low levels of anticonvulsants in a child with refractory epilepsy. *Ther Drug Monit* 26:44-46
21. Lazarowski A, Sevlever G, Taratuto A, Massaro M, Rabinowicz A. (1999) Tuberous sclerosis associated with MDR1 gene expression and drug-resistant epilepsy. *Pediatr Neurol* 21:731-734.
22. Lesko LJ. (2007) Personalized medicine: elusive dream or imminent reality? *Clin Pharmacol Ther.* Jun;81(6):807-16.
23. Lewis LD. (2005) Personalized drug therapy; the genome, the chip and the physician. *Br J Clin Pharmacol.* Jul;60(1):1-4.
24. Loscher W, Klotz U, Zimprich F, Schmidt D (2008) The clinical impact of pharmacogenetics on the treatment of epilepsy. *Epilepsia,* **(*) 1-23
25. Maeda K, Sugiyama Y Impact of genetic polymorphisms of transporters on the pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicological properties of anionic drugs *Drug Metab Pharmacokinet.* 2008;23(4):223-35
26. Perucca E. (2001) Clinical pharmacology and therapeutic use of the new antiepileptic drugs. *Fundam Clin Pharmacol.* Dec;15(6):405-17
27. Phillips KA, Van Bebber SL. (2004) A systematic review of cost-effectiveness analyses of pharmacogenomic interventions. *Pharmacogenomics.* Dec;5(8):1139-49
28. Pirazzoli A, Recchia G. (2004) Pharmacogenetics and pharmacogenomics: are they still promising? *Pharmacol Res.* Apr;49(4):357-61
29. Simon C, Stieger B, Kullak-Ublick GA, Fried M, Mueller S, Fritschy JM, Wieser HG, Pauli-Magnus C. (2007) Intestinal expression of cytochrome P450 enzymes and ABC transporters and carbamazepine and phenytoin disposition. *Acta Neurol Scand* 115:232-242.
30. Srinivasan BS, Doostzadeh J, Absalan F, Mohandessi S, Jalili R, Bigdeli S, Wang J, Mahadevan J, Lee CL, Davis RW, William Langston J, Ronaghi M. Whole genome survey of coding SNPs reveals a reproducible pathway determinant of Parkinson disease. *Hum Mutat.* 2009 Feb;30(2):228-38.
31. Stefan H., Feuerstein TJ. (2007) Novel anticonvulsant drugs. *Pharmacol Ther.* Jan;113(1):165-83.
32. Stephen B. Liggett, Pharmacogenetic applications of the Human Genome project *Nature Medicine* 7, 281 – 283
33. Weber WW. The legacy of pharmacogenetics and potential applications *Mutat Res.* 2001 Aug 8;479(1-2):1-18.
34. Wolf P. Historical aspects of idiopathic generalized epilepsies// *Epilepsia.* – 2005, v.46, suppl. 9, p. 7-9.

EXPERIMENTAL AND CLINICAL EPILEPTOLOGY

Avakyan G.N.,¹ Badalyan O.L.,¹ Burd S.G.,¹ Valdman E.A.,² Voronina T.A.,² Nerobkova L.N.,² Krikova E.V.,² Avakyan G.G.,¹ Chukanova A.S.,¹ Stoyko M.I.,¹ Savenkov A.A.¹

¹ GOU VPO "Russian state medical university named after N.I. Pirogov" of Roszdrav,

² GU scientific research institute of pharmacology named after V.V. Zakusov of RAMS

This article reviews the issues of experimental and clinical epileptology. For the development and implementation of new medications and technologies of medicinal interventions, as well as investigation of main "targets" for anti-epileptic drugs, it is necessary to develop the experimental models of various forms of epilepsy and epileptic seizures. To this end, we studied the alterations of cerebral electrical activity in rats with chronic cobalt epileptogenic focus which represents an optimal experimental model of epileptic state. The significance of hypothalamus was shown to be the lead (determinate) structure within the pathologic epileptic system during formation of secondary generalized seizures. The drug "targets" and possibilities for combined administration of anticonvulsants and antioxidants have been revealed. Pharmacogenetic investigations enable us to predict the effects of different antiepileptic drugs.

Key words: epilepsy, epileptic system, pharmacogenetics, experimental epileptology, clinical epileptology.