



УДК 615.217.34:547.419:547.419:577.165.32

О. А. Кащенко, О. А. Шандра

## ВПЛИВ ЛЕВЕТИРАЦЕТАМУ, ЛІТІЮ ХЛОРИДУ ТА ВАЛЬПРОЄВОЇ КИСЛОТИ НА АМФЕТАМІН-ПОСИЛЕНІ РЕАКЦІЇ САМОСТИМУЛЯЦІЇ У ЩУРІВ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 615.217.34:547.419:547.419:577.165.32

О. А. Кащенко, А. А. Шандра

### ВЛИЯНИЕ ЛЕВЕТИРАЦЕТАМА, ЛИТИЯ ХЛОРИДА И ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА АМФЕТАМИН-УСИЛЕННЫЕ РЕАКЦИИ САМОСТИМУЛЯЦИИ У КРЫС

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

Целью работы была оценка эффектов леветирацетама на подкрепляющие свойства самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс по сравнению с референс-препаратами лития хлоридом и вальпроевой кислотой в условиях амфетамин-индуцированного усиления реакции самостимуляции у крыс. Леветирацетам в этих условиях дозозависимо повышал порог и снижал максимальную частоту реакций самораздражения, что позволяет предположить его ингибирующее действие на систему вознаграждения, которое сходно с действием лития хлорида и отличается от действия вальпроевой кислоты.

**Ключевые слова:** леветирацетам, лития хлорид, вальпроевая кислота, самостимуляция мозга.

UDC 615.217.34:547.419:547.419:577.165.32

O. A. Kashchenko, O. A. Shandra

### INFLUENCE OF LEVETIRACETAM, LITHIUM CHLORIDE AND VALPROIC ACID ON THE AMPHETAMINE-ENHANCED REACTIONS OF THE SELF-STIMULATION IN RATS

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

The **purpose** of this work was an estimation of levetiracetam effects on reinforcing properties of self-stimulation of the lateral hypothalamus in rats as compared to the reference drugs lithium chloride and valproic acid in amphetamine-induced amplification reaction of self-stimulation in rats.

**Materials and methods.** To form a model of the brain self-stimulation bilaterally in the lateral hypothalamic nucleus implanted nichrome monopolar electrodes, followed by morphological control, and 7–10 days after the operation, the rats were trained to press a pedal for electrical stimulation of the brain. The effects of self-stimulation was assessed by analyzing the frequency of pedal and the threshold of self-stimulation. Study of the effects of test compounds started when the value of the average threshold of self-stimulation varied by less than 10% for three consecutive sessions of the brain self-stimulation. It is discovered the levetiracetam dose-dependently increases the threshold and reduces the maximum frequency of reactions of self-stimulation, suggesting that its inhibitory effect on the reward system, which is similar to the action of lithium chloride and different from actions of valproic acid. It is also shown potentiation of levetiracetam inhibitory effects in combination with valproic acid on amphetamine-induced reaction of self-stimulation in the rat, which is possible due to their effects on dopamine-ergic system.

**Results.** The experimental data suggest that the levetiracetam has a strong influence on behavior, in particular the supporting system of the brain, which is similar to the action of lithium chloride and different from the effect of valproic acid.

**Key words:** levetiracetam, lithium chloride, valproic acid, brain self-stimulation.

Біполярні розлади (БР) є одними з найпоширеніших психічних захворювань [1]. Проте сьогодні етіологія й основні патофізіологічні механізми БР залишаються багато в чому нез'ясованими. Одна з причин

недостатнього вивчення патофізіології БР — відсутність адекватних експериментальних моделей.

Один з істотних факторів, що лімітують моделювання БР у тварин, — це циклічна при-

рода БР, чергування манії та депресії. Нині розроблено кілька валідних експериментальних моделей депресії, тимчасом як моделей манії дуже мало [2]. Однією з найчастіше використовуваних фармаколо-



гічних моделей манії є модель гіперактивності, індукованої за допомогою психостимуляторів. Останні, включаючи амфетамін, викликають також появу симптомів манії у людей і підсилюють їх прояв у пацієнтів з БР [3; 4]. Зазначені ефекти амфетаміну пригнічуються за допомогою літію хлориду і вальпроатів [4].

Іншою експериментальною моделлю, що широко використовується для об'єктивного дослідження мотиваційних станів у тварин, є модель самостимуляції мозку (СМ), яка полягає в тому, що тварини через вживлені в мозок електроди прагнуть до повторного подразнення власного мозку [5]. Дана поведінкова парадигма ґрунтується на відкритті Олдса і Мілнера (1954), які показали, що щури шляхом повторного натискання на педаль викликають стимуляцію специфічних компонентів мозкової системи підкріплення чи винагороди. Результати досліджень підтвердили адекватність моделі СМ для дослідження ефектів препаратів, що як посилюють, так і гальмують підкріплювальний ефект [6]. Психостимулятори викликають підсилення поведінкових реакцій СМ [6], що вказує на гіперактивність мозкової системи винагороди. Вважають, що ці ефекти певною мірою відповідають симптомам підвищеного настрою і гедонічних мотивацій, які спостерігаються у пацієнтів із БР [1; 2]. У деяких дослідженнях показано, що під впливом літію підвищувався поріг самоподразнення, тимчасом як вальпроєва кислота не впливала на цей показник [5; 6].

Відомо, що такі протисудомні препарати, як карбамазепін, вальпроати та інші, мають виражені ефекти за умов БР. Ці препарати називають «протисудомними стабілізаторами настрою» [7; 8]. Леветирацетам — [S]- $\alpha$ -етил-2-оксопіролідин ацетамід є новим протиепілептичним засобом з широ-

ким спектром дії, що застосовується для лікування пацієнтів з парціальними або вторинно генералізованими судомами, у тому числі у хворих із фармакорезистентними формами епілепсії. Як і для більшості протиепілептичних засобів молекулярні механізми дії леветирацетаму повністю не з'ясовано, втім дослідження останнього часу показали, що його протисудомна дія зумовлена взаємодією з везикулярним білком 2A(SV2A), який відіграє суттєву роль в екзоцитозі медіаторів, зокрема глутамату [8].

Крім того, леветирацетам підсилював ГАМК-ергічне гальмування шляхом збільшення надходження іонів хлору та посилення виділення ГАМК у синаптичну щілину [8]. Деякі з цих механізмів спільні для дії «протисудомних стабілізаторів настрою». Тому важливо було б з'ясувати, чи впливає леветирацетам на поведінку тварин в умовах самостимуляції.

У зв'язку з викладеним, **метою** роботи було дослідити і порівняти ефекти леветирацетаму, літію хлориду і вальпроєвої кислоти на підкріплювальні властивості СМ латерального гіпоталамуса у щурів. Окремим завданням дослідження було також з'ясувати ефекти зазначених сполук за умов амфетамін-індукованого посилення реакції самостимуляції у щурів.

#### Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконані на щурах-самцях лінії Вістар масою 300–350 г, отриманих з віварію Одеського національного медичного університету. Тварин утримували в стандартних умовах віварію при вільному доступі до води та їжі з природною зміною світла і темряви при температурі  $(22,0 \pm 2,0)^\circ\text{C}$ . Експерименти виконані в осінньо-зимовий період.

Електроди у мозок щурам вживлювали під нембутало-

вим ("Abbot", США) наркозом (45,0 мг/кг) за допомогою стереотаксичного апарата. Білатерально в латеральне гіпоталамічне ядро вживляли ніхромові монополярні електроди діаметром 0,25 мм у скляній ізоляції за винятком кінчика за такими координатами:

AP = 2,5 мм  
назад від брегми;

L = 1,8 мм латерально  
від сагітального шва;

H = 8,5 мм від поверхні  
черепа згідно  
зі стереотаксичним атласом.

Індиферентний електрод з ніхромового дроту закріплювали на черепі щура. Електроди фіксували на черепі тварини за допомогою самотвердіючої пластмаси. Після закінчення експериментів проводили морфологічний контроль локалізації кінчиків електродів.

Через 7–10 днів після операції щурів навчали натискати на педаль для здійснення електричного подразнення мозку відповідно до методики [6]. Кожне натискання на педаль забезпечувало включення стимулятора постійного струму (прямокутні імпульси негативної полярності, тривалістю 0,1 мс з частотою 100 Гц, протягом 0,5 с, порогові значення струму у режимі «фіксованих пачок»). Для повторного подразнення тварина була змушена знову натискати на педаль. Частота і тривалість натискань реєструвались автоматично. Вирозність ефектів самостимуляції оцінювали шляхом підрахування частоти натискання на педаль і реєстрації порога самоподразнення [5]. Дослідження ефектів тестованих сполук починали, коли значення середнього порога самостимуляції варіювало менш ніж на 10 % протягом трьох послідовних сеансів СМ.

У першій серії експериментів досліджували вплив леветирацетаму (Кеппра, "UCB", Бельгія), літію хлориду («Хім-



реактив», Україна), вальпроєвої кислоти («Фарма Старт», Україна), а також поєднаного застосування леветирацетаму і вальпроєвої кислоти на виразність реакції СМ. З цією метою тваринам (по 6 щурів у кожній групі) вводили леветирацетам дозами 10,0; 30,0; 60,0 і 120,0 мг/кг, вальпроєву кислоту 30,0; 100,0; 200,0 і 300,0 мг/кг, літію хлорид 25,0; 50,0; 100,0 і 200,0 мг/кг. Тваринам контрольної групи вводили відповідний об'єм 1 % розчину Твін 80 (Sandoz GmbH, Швейцарія). Усі сполуки вводили внутрішньоочеревинно (в/очер). У другій серії експериментів досліджували вплив леветирацетаму, літію хлориду, вальпроєвої кислоти на амфетамін-індуковане посилення реакції СМ. Реєстрацію реакції СМ починали через 5 хв після в/очер введення 0,5 мг/кг амфетаміну сульфату («Фармсинтез», Росія). Вплив досліджуваних сполук на величину порога і частоту СМ оцінювали за методом ANOVA, достовірність відмінностей визначали з використанням *t*-критерію Фішера. Виведення тварин з експерименту здійснювали шляхом передозування нембуталу дозою 100,0 мг/кг.

### Результати дослідження та їх обговорення

1. *Вплив леветирацетаму, літію хлориду і вальпроєвої кислоти на реакції СМ у щурів.* Завданням першої серії експериментів стало дослідження дозозалежних ефектів леветирацетаму, літію хлориду і вальпроєвої кислоти на реакції СМ. Підвищення порога СМ свідчило про пригнічення, а його зниження вказувало на активацію внутрішньомозкових систем підкріплення [6]. Зміни порога СМ і максимальної частоти натискань на педаль після одноразового введення препаратів подано на рис. 1. Леветирацетам дозами 60 і 120 мг/кг (рис. 1, а), літію хлорид дозами 100,0 і 200,0 мг/кг (рис. 1, в), вальпроєва кислота

дозою 300,0 мг/кг (рис. 1, д) істотно підвищували поріг СМ. Леветирацетам і літію хлорид найбільш високими дозами (120,0 і 200,0 мг/кг відповідно) викликали достовірне зниження частоти СМ (рис. 1, б, з). В умовах введення вальпроєвої кислоти відзначалася тенденція до зниження частоти натискань, яка, однак, не досягала статистичної значущості (рис. 1, е). Дослідження впливу поєднаного застосування леветирацетаму дозою 30,0 мг/кг і вальпроєвої кислоти дозами 30,0; 100,0 і 200,0 мг/кг показали, що за цих умов відзначається значне зростання порога СМ (рис. 1, ж), а поєднане введення леветирацетаму дозою 60,0 мг/кг і вальпроєвої кислоти дозою 200,0 мг/кг викликало зменшення кількості натискань на педаль (рис. 1, з).

2. *Вплив леветирацетаму, літію хлориду і вальпроєвої кислоти на амфетамін-індуковане посилення реакції СМ.* У наступній серії експериментів, використовуючи ті ж групи тварин, досліджували ефекти леветирацетаму, літію хлориду і вальпроєвої кислоти на амфетамін-викликане посилення реакції СМ. Введення амфетаміну сульфату викликало дозозалежну активацію реакції СМ. Результати досліджень показали, що введення амфетаміну сульфату дозою 0,5 мг/кг викликало зниження порога СМ і збільшення кількості натискань на педаль (рис. 2, а, б), що свідчить про активацію підкріплювальних систем мозку. Введення леветирацетаму і літію хлориду викликало дозозалежне підвищення порога СМ, зниженого за допомогою амфетаміну сульфату (рис. 2, а, б). Леветирацетам і літію хлорид у відносно великих дозах (60,0–120,0 і 50,0–100,0 мг/кг відповідно) блокували також амфетамін-викликане збільшення частоти натискань на педаль (рис. 2, б, з). Вальпроєва кислота у досліджуваних дозах не мала суттєвого впливу на ам-

фетамін-викликане посилення реакції СМ (рис. 2, д, е). Комбіноване застосування леветирацетаму і вальпроєвої кислоти дозами, що не мають ефектів при їх роздільному застосуванні, викликало значну гальмівну дію ( $p < 0,05$ ) на амфетамін-викликане посилення реакції СМ (рис. 2, ж, з).

Отже, проведені дослідження показали, що леветирацетам, літію хлорид, а також вальпроєва кислота значно підвищували пороги реакцій самоподразнення, що дозволяє припустити гальмівну дію досліджуваних препаратів на систему винагороди. Крім того, тільки леветирацетам і літію хлорид у найбільших дозах (120 і 200 мг/кг відповідно) значно знижували максимальну частоту реакції СМ. Показано також, що застосування леветирацетаму в поєднанні з вальпроєвою кислотою у підпорогових дозах, тобто дозах, які були мало ефективними при їх роздільному застосуванні, виявляє гальмівний вплив на реакцію самоподразнення, істотно підвищуючи поріг СМ. Отримані результати щодо впливу літію хлориду і вальпроєвої кислоти на поріг СМ відповідають даним інших авторів [9], які виявили подібні ефекти препаратів.

Отримані у цьому дослідженні результати про відповідні ефекти леветирацетаму на систему винагороди вельми схожі з впливом на неї літію хлориду. Можливо, це зумовлено деякими спільними механізмами дії леветирацетаму та літію хлориду.

Далі ми з'ясовували, чи впливають досліджувані препарати на амфетамін-індуковане посилення реакцій СМ. Виявлено, що амфетаміну сульфат, подібно іншим сполукам, які мають збудливу дію на нервову систему, значно знижував поріг і збільшував частоту самоподразнення, що свідчить, можливо, про підвищення активності системи винагороди.



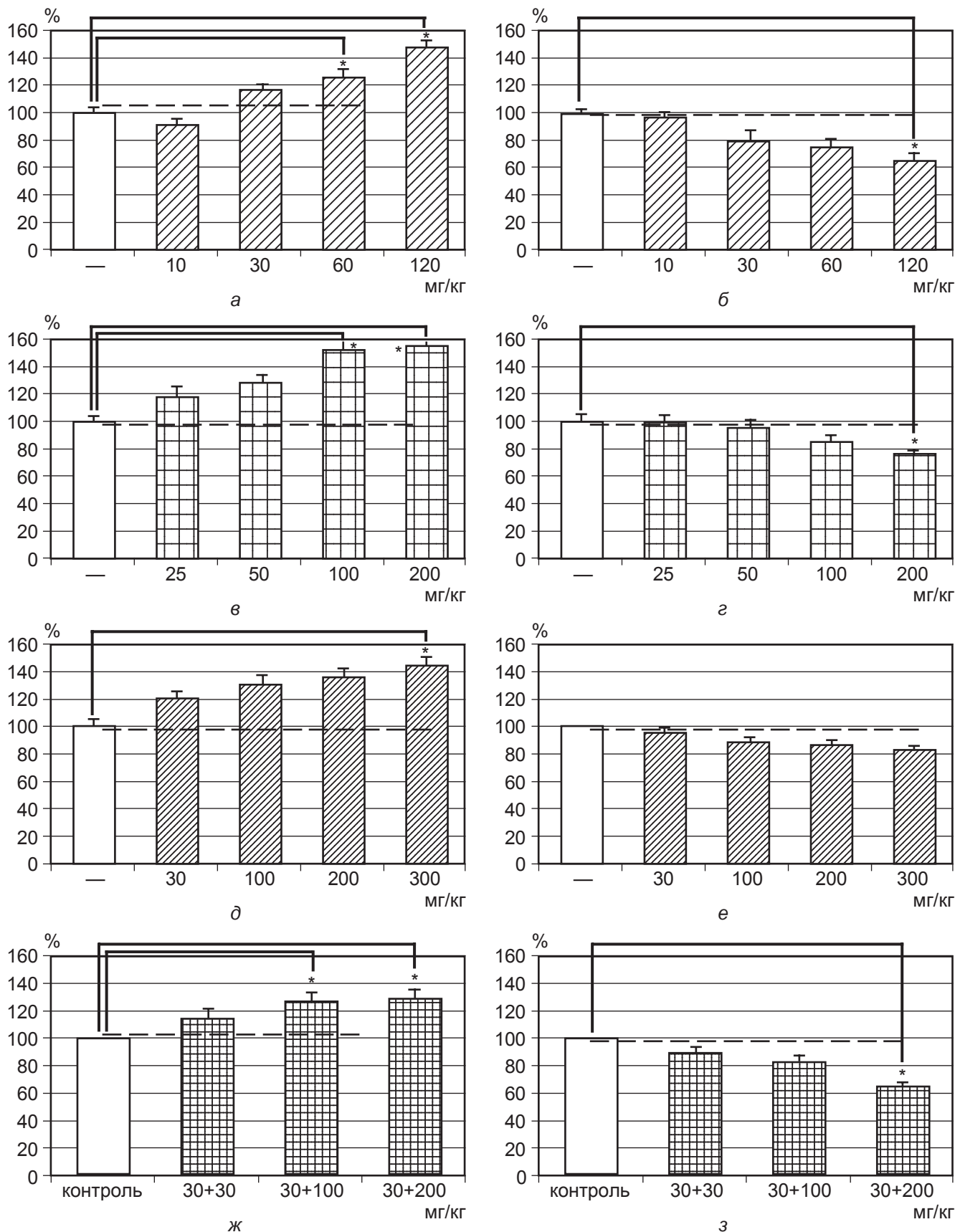


Рис. 1. Вплив одноразового введення леветирацетаму, літію хлориду і вальпроєвої кислоти на реакції самостимуляції у щурів. За віссю абсцис — дози препаратів (мг/кг):  $\square$  — леветирацетам,  $\square$  — літій хлорид,  $\square$  — вальпроєва кислота,  $\square$  — леветирацетам + вальпроєва кислота. За віссю ординат — поріг самостимуляції (а, в, д, ж) і максимальна частота натискань на педаль (б, г, е, з) (%). \* —  $p < 0,05$  — достовірна різниця показників щодо до контрольної групи



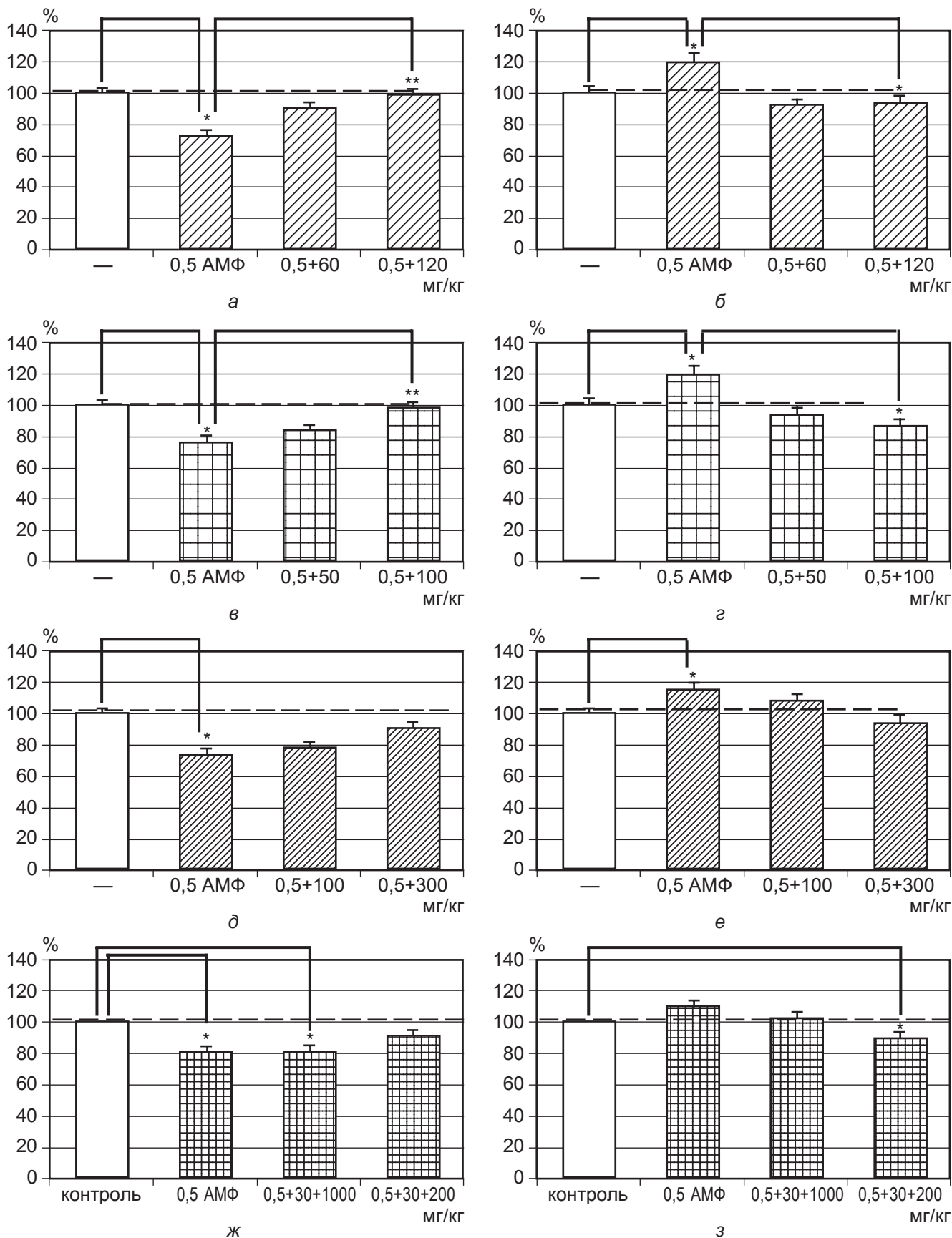


Рис. 2. Вплив одноразового введення леветирацетаму, літію хлориду і вальпроєвої кислоти на амфетамін-індуковане посилення реакції самостимуляції у щурів. За віссю абсцис — дози препаратів (мг/кг):  $\square$  — леветирацетам,  $\square$  — літію хлорид,  $\square$  — вальпроєва кислота,  $\square$  — леветирацетам + вальпроєва кислота. За віссю ординат — поріг самостимуляції (а, в, д, з) і максимальна частота натискань на педаль (б, г, е, з) (%). \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — достовірна різниця показників щодо контрольної групи

Ці дані корелюють з даними про те, що амфетаміну сульфат полегшував реакції самопоздрознення, викликані стимуляцією гіпоталамуса та інших структур мозку [6].

В умовах введення амфетаміну сульфату виявлені деякі відмінності в дії досліджуваних сполук. Так, показано, що леветирацетам і літію хлорид дозозалежно блокували ефекти амфетаміну, які активують винагороду, тимчасом як вальпроєва кислота не чинила суттєвого впливу на них. Однак за умов одночасного застосування леветирацетаму і вальпроєвої кислоти у відносно низьких дозах (60,0 і 200,0 мг/кг відповідно) також відзначалося значне гальмування підсилювальних ефектів амфетаміну. Таким чином, вальпроєва кислота потенціювала ефекти леветирацетаму.

Можливо, що активуючі реакції СМ ефекту амфетаміну зумовлені його здатністю збільшувати вивільнення дофаміну в синапсах ЦНС [9]. У зв'язку з цим можна припустити, що гальмівні ефекти леветирацетаму та літію хлориду на амфетамін-індуковане посилення реакції самостимуляції зумовлені їхнім впливом на дофамінергічну систему. Підтвердженням можуть служити дані про те, що під впливом літію хлориду відзначалося зниження рівня дофаміну в гіпоталамусі.

Наші дані узгоджуються з результатами [9], які показали інгібуючі ефекти літію хлориду і його комбінацій з вальпроєвою кислотою на амфетамін-посилені реакції самостимуляції гіпоталамуса у щурів, а також даними [10], у яких показано блокуючі ефекти лакозаміду на кокаїн-посилені реакції СМ. Виявлена також здатність літію хлориду блокувати й інші поведінкові ефекти амфетаміну сульфату в експериментальних тварин. Результати наших досліджень частково узгоджуються з даними клінічних спостережень про те, що літій має

більшу ефективність за умов маніакальних порушень, ніж вальпроєва кислота та інші протисудомні препарати. Втім, вальпроєва кислота більш ефективна у пацієнтів з депресивними розладами [1]. Суттєво важливо, що ефекти леветирацетаму в наших дослідженнях були більш схожими із впливом літію на систему винагороди мозку.

Отримані результати дозволяють зробити висновок про те, що леветирацетам має виражений вплив на поведінку, зокрема, на підкріплювальні системи мозку, який є подібним до дії літію хлориду і відрізняється від дії вальпроєвої кислоти.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Belmaker R. H.* Bipolar disorder / R. H. Belmaker // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – N 351. – P. 476–486.
2. *Einat H.* Establishment of battery of simple models for facets of bipolar disorder: a practical approach to achieve increased validity, better screening and possible insights into endophenotypes of disease / H. Einat // *Behav. Genet.* – 2007. – N 37. – P. 244–255.
3. *Brain SPECT imaging of amphetamine-induced dopamine release in euthymic bipolar disorder patient* / A. Anund, P. Verhoeff, N. Seneca [et al.] // *Am. J. Psychiatry.* – 2000. – N 157. – P. 1108–1114.
4. *Lithium and valproate attenuate dextroamphetamine-induced changes in brain activation* / E. C. Bell, M. C. Willson, A. H. Wilman [et al.] // *Hum. Psychopharmacology.* – 2005. – N 20. – P. 87–96.
5. *Carlezon J.* Intracranial self-stimulation (ICSS) in rodents to study the neurobiology of motivation. / J. Carlezon, E. Chartoff // *Nat. Protoc.* – 2007. – N 2. – P. 2987–2995.
6. *Динамика реакции самостимуляции мозга у крыс после форсированного введения психоактивных веществ* / П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев, А. В. Любимов [и др.] // *Психофармакология и биологическая наркология.* – 2009. – Т. 9, вып. 1/2. – С. 2524–2529.
7. *Bowden C.* Anticonvulsant in bipolar disorders: current research and practice and future directions / C. Bowden // *Bipolar disord.* – 2009. – N 11 (2). – P. 20–33.
8. *Margineanu D.* Systems biology impact on antiepileptic drug discovery

/ D. Margineanu // *Epilepsy Res.* – 2012. – N 98. – P. 104–115.

9. *Mavrikaki M.* Effects of mood stabilizers on brain reward processes in rat: studies using the intracranial self-stimulation paradigm / M. Mavrikaki, G. Nomikos, G. Panagis // *Eur. Neuropsychopharmacology.* – 2009. – N 19. – P. 205–214.

10. *Effects of anticonvulsant lacosamid compared to valproate and lamotrigine on cocaine-enhanced reward in rats* / C. Beguin, D. N. Potter, W. A. Carlezon [et al.] // *Brain res.* – 2012. – N 1479. – P. 44–51.

#### REFERENCES

1. *Belmaker R.H.* Bipolar disorder. *N. Engl. J. Med.* 2006; 351: P. 476-486.
2. *Einat H.* Establishment of battery of simple models for facets of bipolar disorder: a practical approach to achieve increased validity, better screening and possible insights into endophenotypes of disease. *Behav. Genet.* 2007; 37: 244-255.
3. *Anund A., Verhoeff P., Seneca N.* [et al.] Brain SPECT imaging of amphetamine-induced dopamine release in euthymic bipolar disorder patient. *Am. J. Psychiatry* 2000; 157: 1108-1114.
4. *Bell E.C., Willson M.C., Wilman A.H.* [et al.] Lithium and valproate attenuate dextroamphetamine-induced changes in brain activation. *Hum. Psychopharmacology* 2005; 20: 87-96.
5. *Carlezon J., Chartoff E.* Intracranial self-stimulation (ICSS) in rodents to study the neurobiology of motivation. *Nat. Protoc.* 2007; 2: 2987-2995.
6. *Shabanov P.D., Lebedev A.A., Lyubimov A.V.* [et al.] Dynamic of response of the brain self-stimulation in rats after the forced administration of psychoactive substances. *Psychopharmacologia i biologicheskaya narkologia* 2009; 9 (1/2): 2524-2529.
7. *Bowden C.* Anticonvulsant in bipolar disorders: current research and practice and future directions. *Bipolar Disord.* 2009; 11 (2): 20-33.
8. *Margineanu D.* Systems biology impact on antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Res.* 2012; 98: 104-115.
9. *Mavrikaki M., Nomikos G., Panagis G.* Effects of mood stabilizers on brain reward processes in rat: studies using the intracranial self-stimulation paradigm. *Eur. Neuropsychopharmacology* 2009; 19: 205-214.
10. *Beguin C., Potter D.N., Carlezon W.A.* [et al.] Effects of anticonvulsant lacosamid compared to valproate and lamotrigine on cocaine-enhanced reward in rats. *Brain res.* 2012; 1479: 44-51.

Надійшла 16.08.2013

