

Abstract**N. Shastun,**

*Dnepropetrovsk State
Medical Academy,
9 Dzerzhinsky st.,
Dnepropetrovsk 49044,
Ukraine*

MOLECULAR-BIOCHEMICAL CRITERIA OF PROGNOSIS AND SAFETY EVALUATION OF ANTICONVULSANT THERAPY

Epilepsy is one of the most common diseases of the nervous system. The efficacy of treatment of epilepsy presupposes not only seizure treatment, but also safe use of anticonvulsants. Concept of neuronal cell death in different diseases of the central nervous system and their pharmacological regulation is studied quite intensively worldwide. We have previously shown that during simulation of metazole seizures in the sensorimotor cortex of the brain the expression of inducible and especially neuronal NO-synthase is increased, considering the deficiency of thiol compounds: total recovered thiol, reduced glutathione and glutathione reductase activity decrease. It is therefore of interest to study biochemical markers in metrazole kindling and the impact of anticonvulsants on cognitive function in the experiment.

Purpose: to identify the diagnostic laboratory potential of glutathione and nitrotyrosine for assessment of safety of anticonvulsant therapy in the experiment.

Materials and Methods. Research was conducted on non-linear rats of both sexes weighing 180–220g. The influence of anticonvulsants on cognitive processes was studied on a model of one-time learning – conditioned passive avoidance reflex (CPAR) without the amnesia factor. Metrazole kindling was used as an epilepsy model to evaluate the oxidative status of anticonvulsants.

Discussion. Analysis of the results indicates activation of nitrosating stress reactions against the deficiency of reduced glutathione equivalents. In the context of endogenous neurointoxication, already in the early terms, the nitrosating stress develops, leading to nitro-replication of thiols, impacting the thiol-disulfide balance, which in turn leads to the development of neuro-apoptosis. In the control group, the index ratio nitrotyrosine vs. reduced glutathione increased 6 times compared to the intact group. It was established that the higher the index of nitrotyrosine/reduced glutathione during Metrazole kindling, the more negative effects are provided by anticonvulsants on cognitive processes.

Keywords: anticonvulsants, glutathione, nitrotyrosine, neuro-apoptoz, cognitive processes.

Corresponding author: *shastun.n@i.ua*

Резюме**Н. П. Шастун,**

*Дніпропетровська медична
академія, вул. Дзержинського, 9,
м. Дніпропетровськ,
Україна, 49044*

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ПРОГНОЗУ ТА ОЦІНЮВАННЯ БЕЗПЕКИ ПРОВЕДЕННЯ ПРОТИСУДОМНОЇ ТЕРАПІЇ

Метою проведеного дослідження було визначення лабораторно-діагностичного потенціалу глутатіону та нітротирозину для оцінювання нейробезпечності протисудомної терапії в експерименті. Дослідження проведені на нелінійних щурах обох статей вагою 180–220 г. Вплив антиконвульсантів на когнітивні процеси вивчали на

моделі одноразового навчання – умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ) без застосування амнезувального фактора. Для оцінювання показників окиснювального статусу дії антиконвульсантів як моделі епілепсії використовували коразоловий кіндлінг. Аналіз одержаних результатів свідчить про активацію реакцій нітрузувального стресу на тлі дефіциту відновлених еквівалентів глутатіону. В умовах ендогенної нейроінтоксикації вже на ранніх термінах розвивається нітрузувальний стрес, призводячи до нітротирозування тиолів, змінюючи тиол-дисульфідну рівновагу, що спричиняє розвиток нейроапоптозу. У групі контролю індекс співвідношення нітротирозин/відновлений глутатіон збільшився у 6 разів порівняно з групою інтакту. Встановлено залежність індексу нітротирозин/відновлений глутатіон при коразоловому кіндлінгу та дії антиконвульсантів на когнітивні процеси в нормі: чим вищий індекс, тим більш негативний ефект антиконвульсантів на когнітивні функції.

Ключові слова: антиконвульсанти, глутатіон, нітротирозин, нейроапоптоз, когнітивні процеси.

Резюме

Н. П. Шастун,
Днепропетровская медицинская академия, ул. Дзержинского, 9,
г. Днепропетровск,
Украина, 49044

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПРОГНОЗА И ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВОДИМОЙ ПРОТИВОСУДОРОЖНОЙ ТЕРАПИИ

Целью проведенного исследования было определение лабораторно-диагностического потенциала глутатиона и нитротирозина для оценки нейробезопасности противосудорожной терапии в эксперименте. Исследования проведены на нелинейных крысах обоего пола весом 180–220 г. Влияние антиконвульсантов на когнитивные процессы изучали на модели однократного обучения – условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) без применения амнезирующего фактора. Для оценки показателей окислительного статуса действия антиконвульсантов в качестве модели эпилепсии использовали коразоловый киндлинг. Анализ полученных результатов свидетельствует о активации реакций нитрующего стресса на фоне дефицита восстановленных эквивалентов глутатиона. В условиях эндогенной нейроинтоксикации уже на ранних сроках развивается нитрующий стресс, приводя к нитротирозированию тиолов, изменяя тиол-дисульфидное равновесие, приводящее к развитию нейроапоптоза. В группе контроля индекс соотношения нитротирозин/восстановленный глутатіон увеличился в 6 раз по сравнению с группой интакта. Установлена зависимость индекса нитротирозин/восстановленный глутатіон при коразоловом киндлинге и действия антиконвульсантов на когнитивные процессы в норме: чем выше индекс, тем более негативные эффекты оказывают антиконвульсанти на когнитивные функции.

Ключевые слова: антиконвульсанти, глутатіон, нитротирозин, нейроапоптоз, когнитивные процессы.

Автор, відповідальний за листування: shastun.n@i.ua

Вступ

Епілепсія являється одним из самых распространенных заболеваний нервной системы, требующих длительного, а иногда и пожизненного

приема противосудорожной терапии. Одним из главных направлений в эпилептологии является изучение влияния антиконвульсантов на качество жизни пациентов, которое, в свою очередь,



является критерием эффективности терапии [1]. Ведь такие побочные эффекты, как снижение памяти, концентрации внимания, головокружение, нарушение когнитивных функций, присущи почти всем антиконвульсантам [1, 2].

В последние годы уделяется большое внимание изучению механизмов возникновения и развития эпилепсии, а также разработке наиболее рациональных и эффективных путей профилактики и лечения этого патологического состояния. Биохимические аспекты эпилепсии широко дискутируются в современной литературе [3, 4]. Обсуждение включает изучение характера, роли молекулярно-биохимического диалога при эпилепсии, выявление дополнительных возможных «молекулярно-биохимических» маркеров для оценки эффективности противосудорожной терапии, прогнозирования течения заболевания [4, 5].

Повторяющиеся эпилептические припадки сопровождаются стойкими нарушениями обмена веществ в головном мозге и значительными дисгемическими нарушениями [6]. Они запускают каскад биохимических реакций, лежащих в основе тканевого повреждения. Локальная тканевая гипоксия при судорогах приводит к избыточному выбросу глутамата, запуску ряда нейробиохимических реакций с накоплением избыточного количества свободных радикалов кислорода, развитию «оксидантного стресса», усилению эксайтотоксических эффектов, перевозбуждению и повреждению глутаматных рецепторов [5, 6]. Нами ранее показано, что при моделировании коразоловых припадков (КП) в сенсомоторной коре головного мозга увеличивается экспрессия индуцибельной и, особенно, нейрональной NO-синтазы на фоне дефицита тиольных соединений – суммарных восстановленных тиолов, восстановленного глутатиона и снижения активности глутатионредуктазы [7]. Поэтому представляет интерес изучение биохимических маркеров при коразоловом киндлинге и влияния антиконвульсантов на когнитивные функции в эксперименте.

Цель исследования – определить лабораторно-диагностический потенциал глутатиона и нитротирозина для оценки нейробезопасности противосудорожной терапии в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 320 нелинейных крысах обоего пола весом 180–220 г. (исследование влияния антиконвульсантов на когнитивные процессы проведено на 180 животных,

оценка показателей окислительного статуса в условиях коразолового киндлинга – на 140 животных). Все экспериментальные процедуры осуществляли согласно Положению об использовании животных в биомедицинских исследованиях [8].

Препараты: вальпроат натрия («Депакин», таблетки по 300 мг, производства «Sanofi Winthrop Industria», Франция) – в дозе 155 мг/кг, карбамазепин («Карбамазепин-Дарница», таблетки по 200 мг, производства «Дарница», Украина) – в дозе 125 мг/кг, топирамат («Топиромакс», таблетки по 100 мг, производства «Фарма Старт Украина») – в дозе 304 мг/кг, габапентин («Габагама», капсулы по 300 мг, производства Вьорваг Фарма ГмБХ, Германия) – в дозе 100 мг/кг, ламотриджин («Ламиктал», таблетки по 100 мг, производства Глаксо Смит Кляйн Фармасьютикалз С. А., Польша) – в дозе 50 мг/кг. Все препараты вводились внутривентрикулярно в дозах, вызывающих нейротоксические эффекты, в части эксперимента, где исследовалось их влияние на когнитивные функции [9,10].

Влияние антиконвульсантов на когнитивные процессы изучали на модели однократного обучения – условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) без применения амнезирующего фактора [11]. В 1-й серии экспериментов с целью изучения действия препаратов на начальные фазы обработки памятного следа (обучение) крысам вводили внутривентрикулярно исследуемые препараты в соответствующих дозах за 60 минут до обучения, контрольной группе вводили дистиллированную воду.

Эффект исследуемых препаратов оценивали по их способности увеличивать или уменьшать количество животных с УРПИ, которая была произведена при формировании пассивно-оборонительного навыка через час после введения препарата, а также по разнице латентного времени захода в темный отсек до и после обучения. Для оценки влияния препаратов на консолидацию памятного следа животным исследовательских групп после формирования пассивно-оборонительного навыка вводили исследуемые препараты в соответствующих дозах. Эффект препаратов оценивался по их способности уменьшать количество животных, теряющих УРПИ, при проверке сохранности производимого навыка через 1 час после однократного введения антиконвульсантов и по разнице латентного времени захода в темный отсек. В серии



опытов для оценки действия антиконвульсантов на процессы воспроизведения энграмм памяти животным через 72 часа после выработки УР-ПИ однократно вводили противосудорожные средства за 1 час до проверки сохранности выработанного навыка [12,13].

Для оценки показателей окислительного статуса действия антиконвульсантов использовали коразоловый киндлинг [14]. В работе использовали коразол производства «Нижфарм» (Россия) и Sigma-Aldrich (USA). Препараты вводили профилактически ежедневно 1 раз в сутки (11 введений) внутривентрикулярно за 60 мин до введения коразола в терапевтических дозах: топирамат – 100,0 мг/кг, депакин – 60 мг/кг, ламотриджин – 50 мг/кг, габапентин – 50 мг/кг, карбамазепин – 125 мг/кг [15,16]. Необходимо отметить, что карбамазепин в дозе 125 мг/кг проявляет как терапевтическое (противосудорожное), так и нейротоксическое действие [17]. На 11-е сутки животных выводили из эксперимента под этаминал-натриевым наркозом путем декапитации [18]. Для исследования биохимических маркеров получали гомогенат головного мозга. Мозг промывали в 0,25 М сахарозном буфере (pH–7,4), охлажденном до 2 °С и измельчали в 10-кратном объеме (содержание белка – 0,8–1,0 г/л) этого же буфера в гомогенизаторе SilentCrusher S (фирмы Heidolph). Грубую часть гомогената удаляли путем центрифугирования при 4 °С на центрифуге Eppendorf-5804R в течение 30 мин. Полученный надосадок использовали для проведения биохимических и иммуноферментных методик.

Оценку нейропротективного/нейротоксического действия антиконвульсантов проводили по содержанию нитротирозина, глутатиона восстановленного. Нитротирозин определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) фирмы Hycult biotech. Восстановленный глутатион определяли флуорометрически по комплексу глутатион восстановленный – ортофталевый ангидрид при Ex/Em = 340/420 нм [19].

Полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с помощью программы статистического анализа Stat Plus, Analyst Soft. Версия 2006. (см. <http://www.analystsoft.com/ru/>) на персональном компьютере «Intel Pentium-IV». Полученные результаты представляли в виде среднеарифметической (M) и стандартной ошибки

(m). Достоверность различия средних значений оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и критерия хи-квадрат χ^2 .

Результаты исследования и их обсуждение

При моделировании хронического судорожного синдрома нами были выявлены формирование нитрозирующего стресса и, как следствие, накопление его маркерных продуктов в головном мозге животных в виде увеличения нитротирозина почти на 63 % в сравнении с интактной группой животных. В то же время активность маркеров глутатионного звена тиол-дисульфидной системы снижалась (глутатион восстановленный с 4,73 до 2,12 мкмоль/г ткани по сравнению с интактными животными). Подобный факт свидетельствует об активации реакций нитрозирующего стресса на фоне дефицита восстановленных эквивалентов глутатиона. Соотношение оксида азота и тиол-дисульфидной системы является фактором, определяющим дальнейшую судьбу нейрона в условиях ишемической нейродеструкции, транзиттерного аутокоидоза и других экстремальных состояниях, а именно тип его гибели (И. Ф. Беленичев). В условиях эндогенной нейроинтоксикации уже на ранних сроках развивается нитрозирующий стресс, приводя к нитрозированию тиолов, изменяя тиол-дисульфидное равновесие, приводящее к развитию нейроапоптоза. Так, в группе контроля индекс соотношения нитротирозин/восстановленный глутатион увеличился в 6 раз по сравнению с группой интакта.

Как видно из табл.1, профилактическое введение в течение 11 суток антиконвульсантов в разной степени выраженности снижало содержание маркера нитрозирующего стресса – нитротирозина.

Наиболее значительное снижение нитротирозина наблюдалось при введении 50 мг\кг (на 58,9 %) ламотриджина. Топирамат и депакин практически одинаково снижали уровень нитротирозина. Наименьшее влияние на торможение реакции нитрозирующего стресса в условиях коразолового киндлинга оказывали 50 мг\кг габапентина и 125 мг\кг карбамазепина – показатель нитротирозина составлял $(43,3 \pm 3,4)$ нмоль/г и $(48,7 \pm 4,2)$ нмоль/г соответственно.

Из таблицы 1 также видно, что высокая активность топирамата и, особенно, ламотриджина по торможению реакций нитрозирующего стресса в условиях модельных судорог связана и с повышением активности тиол-дисульфидной



системы. Так, профилактическое введение ламотриджина и топирамата обеспечивало сохранность восстановленных эквивалентов тиол-дисульфидной системы по сравнению с неле-

ченными животными. Ламотриджин повышал восстановленный глутатион до 3,14 мкмоль/г ткани ($p < 0,05$), а топирамат – до 2,88 мкмоль/г ($p < 0,05$).

Таблица 1 – Показатели систем NO и глутатиона головного мозга крыс при использовании антиконвульсантов на фоне коразолового киндлинга

Группа животных	Глутатион восстановленный, мкмоль/г ткани	Нитротирозин, нмоль/г	Индекс нейродеструкции нитротирозин/глутатион
Интакт	4,73 ± 0,23	19,2 ± 1,2	
Коразоловые припадки (КП) (контроль)	2,12 ± 0,11	51,6 ± 3,1	24,33
КП + топирамат (100 мг/кг)	2,88 ± 0,15*	33,3 ± 2,2*	11,56
КП + ламотриджин (50 мг/кг)	3,14 ± 0,22*	21,2 ± 1,8*	6,75
КП + депакин (60 мг/кг)	1,93 ± 0,75	33,7 ± 2,6*	17,46
КП + габапентин (50 мг/кг)	2,67 ± 0,23	43,3 ± 3,4*	16,21
КП + карбамазепин (125 мг/кг)	2,00 ± 0,33	48,7 ± 4,2	24,35
* Изменения достоверны по отношению к животным контрольной группы ($p < 0,05$)			

Введение депакина, карбамазепина и габапентина не оказывало достоверного влияния на показатели тиол-дисульфидной системы головного мозга крыс после коразоловых судорог. Наиболее наглядно нейропротективный эффект препарата продемонстрирован при расчете коэффициента нитротирозин/восстановленный глутатион. Ламотриджин и топирамат снижали индекс нейродеструкции в 4 и 2 раза соответственно в отличие от других антиконвульсантов.

Нейропротективное действие топирамата при коразоловом киндлинге может быть объяснено его антиоксидантным механизмом. Нами выявлено, что антиоксидантное действие топирамата реализуется повышением активности глутатион-зависимых антиоксидантных ферментов и повышением уровня восстановленных тиолов. Подобный эффект топирамата не только ограничивает повреждающее действие нитрозирующего стресса на нейроны в условиях судорожного припадка, но и нормализует биодоступность NO.

Во второй серии экспериментов при исследовании влияния антиконвульсантов на обучаемость животных в тесте УРПИ без амнезирующего фактора было показано, что внутрижелудочное введение карбамазепина достоверно уменьшает латентный период захода в темный

отсек при воспроизведении навыка по сравнению с контролем. Это свидетельствует о негативном влиянии карбамазепина на обучаемость животных. Процент обученных животных при введении карбамазепина до выработки УРПИ составил лишь 40 % (табл. 2).

Достоверных отличий латентного времени захода в темный отсек по сравнению с контролем при воспроизведении в группах животных, которым вводили ламотриджин, топирамат, габапентин и депакин, выявлено не было. Однако следует отметить, что у животных, которым вводили топирамат, ламотриджин, габапентин и депакин, латентный период захода в темный отсек при воспроизведении УРПИ значительно возрастал по сравнению с этими же показателями при обучении, что свидетельствует о сохранности у крыс навыка пассивного избегания.

При анализе влияния исследуемых препаратов на консолидацию памятного следа, представленных в таблице 3, можно видеть, что латентный период захода в темный отсек во всех группах статистически значимо не отличался. Однако следует отметить, что процент обученных животных при введении карбамазепина остается по-прежнему ниже, чем при введении других антиконвульсантов.

Таблица 2 – Влияние антиконвульсантов на обучаемость животных в тесте УРПИ без амнезирующего фактора

Условие опыта	Кол-во животных	Процент обученных	Латентный период, с	
			обучения	воспроизведения
Контроль	10	90	12,4 ± 1,95	172,6 ± 7,4
Ламотриджин (50 мг/кг)	10	90	9,1 ± 1,98	174,4 ± 5,6 ¹
Карбамазепин (125 мг/кг)	10	40	52,9 ± 10,79*	77,5 ± 27,9*
Топирамат (304 мг/кг)	10	70	17,8 ± 5,03	129,0 ± 25,96 ¹
Габапентин (100 мг/кг)	10	70	22,2 ± 6,9	140,3 ± 20,58 ¹
Депакин (155 мг/кг)	10	80	9,1 ± 1,98	169,1 ± 7,82 ¹

* $P < 0,05$ по отношению к контрольной группе;
¹ $p < 0,05$ по отношению к значению латентного времени в период обучения

Также показано достоверно значимое увеличение латентного времени захода в темный отсек при воспроизведении УРПИ с показателями, полученными при обучении, в группах животных, получавших ламотриджин, габапентин, депакин, топирамат.

Латентный период пребывания животного в светлом отсеке камеры при тестировании является показателем, характеризующим степень

запоминания крысой отрицательного опыта – удара током, который она приобрела в темном отсеке камеры во время первого ее посещения при обучении. Мы видим, что введение животным ламотриджина, габапентина, депакина и топирамата после обучения не повлияло на память об отрицательном опыте, т. е. латентный период пребывания животных в светлом отсеке не уменьшился.

Таблица 3 – Влияние антиконвульсантов на консолидацию памятного следа животных в тесте УРПИ без амнезирующего фактора

Условие опыта	Кол-во животных	Процент обученных	Латентный период, с	
			обучения	воспроизведения
Контроль	10	100	9,03 ± 2,02	170,9 ± 9,1
Ламотриджин (50 мг/кг)	10	90	8,1 ± 1,53	169,6 ± 10,4 ¹
Карбамазепин (125 мг/кг)	10	70	79 ± 1,12	128,7 ± 26,12
Топирамат (304 мг/кг)	10	80	12,3 ± 4,02	145,8 ± 22,8 ¹
Габапентин (100 мг/кг)	10	90	22,2 ± 6,9	140,3 ± 20,58 ¹
Депакин (155 мг/кг)	10	80	7,8 ± 1,19	163,1 ± 16,9 ¹

¹ $P < 0,05$ по отношению к значению латентного времени в период обучения

В серии опытов для оценки влияния антиконвульсантов на воспроизведение энграмм памяти показано, что наименьшее влияние оказывает ламотриджин, при его введении процент животных с сохранным навыком составил 90 % ($p < 0,001$) (табл. 4). Введение 125 мг/кг карбамазепина существенно уменьшало количество животных с сохранным

навыком – 60 % ($p < 0,001$), что свидетельствует о его отрицательном влиянии на воспроизведение энграмм памяти.

Депакин, топирамат и габапентин снизили обучаемость животных на 30 и 20% ($p < 0,001$) соответственно. Таким образом, мы видим, что наибольшее негативное влияние на процессы воспроизведения энграмм



памяти оказывает карбамазепин, наименьшее – ламотриджин. При этом ламотриджин в 4

раза снижал индекс нейродеструкции нитротирозин/восстановленный глутатион.

Таблица 4 – Влияние антиконвульсантов на воспроизведение энграмм памяти животных в тесте УРПИ без амнезирующего фактора

Препарат, мг/кг	Кол-во обученных животных	Процент животных с сохраненным навыком
Контроль	10	100
Карбамазепин (125 мг/кг)	6	60*
Депакин (60 мг/кг)	7	70*
Топирамат (100мг/кг)	7	70*
Габапентин (50 мг/кг)	8	80*
Ламотриджин (50 мг/кг)	9	90*
* $P < 0,001$ по отношению к контрольной группе по критерию χ^2 -квadrat		

Таким образом, рассчитанный индекс нитротирозин/восстановленный глутатион для антиконвульсантов в условиях проводимой противосудорожной терапии позволяет оценить ее нейробезопасность: низкие значения этого пока-

зателя у препарата (ниже 10) свидетельствуют о достаточно низком негативном воздействии на когнитивные функции и высоком нейропротективном действии.

Висновки

1. Наиболее достоверно негативный эффект на процессы обучения и памяти был выявлен при внутрижелудочном введении карбамазепина в дозе 125 мг/кг, индекс нитротирозин/восстановленный глутатион которого на фоне коразолового киндлинга был наиболее высоким – 24,35.

2. Наименьший негативный эффект на когнитивные функции оказывал ламотриджин при внутрижелудочном введении в дозе 50 мг/кг интактным животным. Его индекс нитротирозин/восстановленный глутатион на фоне коразолового киндлинга был наименьшим – 6,75.

3. Депакин, габапентин и топирамат оказывали негативное влияние на обучаемость, но не имели отрицательного эффекта на консолида-

цию памятного следа. Их индексы нитротирозин/восстановленный глутатион были ниже, чем при применении карбамазепина, однако выше, чем при введении ламотриджина.

4. Установлена зависимость индекса нитротирозин/восстановленный глутатион при коразоловом киндлинге и действия антиконвульсантов на когнитивные процессы в норме: чем выше индекс, тем более негативные эффекты оказывают антиконвульсанты на когнитивные функции.

5. Для рационального назначения терапии эпилепсии и уменьшения побочных эффектов антиконвульсантов необходимо учитывать соотношение нитротирозина и тиол-дисульфидной системы.

References (список літератури)

1. Hecht AB. [Evaluation quality of life of patients with epilepsy]. *Ocenka kachestva zhizni bolnih s epilepsiey*. [IX Congress "Man and of drugs."]. Moscow, 2002, pp.14–41 (in Russian).
2. Brodie M. [Current and rational therapy of epilepsy]. *Intern. nevrol. Journal*. 2005;(4):72–83.
3. Lundberg S, Eeg-Olofsson O. Rolandic epilepsy: a challenge in terminology and classification. *European Journal of Paediatric Neurology*. 2003;(7):239–241.
4. Pressler R, Robinson R, Wilson G, Binnie C. Treatment of interictal epileptiform discharges can improve behavior in children with behavioral problems and epilepsy. *J. Pediatr*. 2005;(146):112–117.



5. Aldenkamp AP., Krom MD., Reijs R. Newer antiepileptic drugs and cognitive issues. *Epilepsia*. 2003; 44(4): 21–29.
6. Agarwal NB, Agarwal NK, Mediratta PK, Sharma KK. Effect of lamotrigine, oxcarbazepine and topiramate on cognitive functions and oxidative stress in PTZ-kindled mice. *Seizure*. 2011;20(3):257–62.
7. Shastun N, Opryshko V, Buchtiarova N, Levich S. Comparison of influence of lamotrigine and other anticonvulsants on nitric oxide and thiol-disulfide systems in conditions of metrazole kindling. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2015; 4(2):79–84
8. [Medical ethics and human rights: provisions on the use of animals in biomedical experiments]. *Experimental and clinical physiology and biochemistry*. 2003;2(22):108–109.
9. Inoue M, Yamamoto A, Kaneko Y, Noda A, Naito H. Effects of conventional anticonvulsant drugs on generalized tonic-clonic seizures in Noda epileptic rats. *Epilepsy Res*. 2014 Sep;108(7):1158–67.
10. Luo Z, Fang Y, Zhang L. The effects of antiepileptic drug valproic acid on apoptosis of hippocampal neurons in epileptic rats. *Pak J Pharm Sci*. 2015 Jan;28(1 Suppl):319–24.
11. Habryev GV, Voronina TA, Ostrovskaya GV, *Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyih farmakologicheskikh veschestv* [Guide to experimental Study novyih pharmacological substances]. Publishing House of OAO "Medicine", 2005.308–320.
12. Borodkin YS, Zaitsev YV. *Neyrohimicheskie i funktsionalnyie osnovyi dolgovremennoy pamyati* [Neurochemical and functional basics long-term memory]. Publ. Medicine, 1982.216.
13. Bures J, Buresude O. Cortical spreading depression as a memory disturbing factor/ J. comp. and phisiol. 1963;56(2):268–272.
14. Shandra AA, Hodlevskyy LS, Brusentsov AI. *Kindling i epilepticheskaya aktivnost* [Kindling and epileptic activity.]. Odessa:1999.270.
15. Cardile V, Pavone A, Renis M, Maci T, Perciavalle V. Effects of gabapentin and topiramate in primary rat astrocyte cultures. *Neuroreport*, 2001;12:1705–1708.
16. Halonen T, Nissinen J, Pitkinen A. Effect of lamotrigine treatment on status epilepticus-induced neuronal damage and memory impairment in rat. *Epilepsy Res* 2001;46:205–23.
17. Tarun A, Ashish K. Mehta. Effect of Carbamazepine and Lamotrigine on Cognitive Function and Oxidative Stress in Brain during Chemical Epileptogenesis in Rats. Nordic Pharmacological Society. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology. 2003;106,372–377.
18. Chekman IS, Gromov LA, Belenichev IF. *Doklinicheskoe izuchenie spetsificheskoy aktivnosti potentsialnyih neyroprotektivnyih preparatov* [Pre-clinical study of the specific activity of potential neuroprotective drugs]. Metod.rekom. State Pharmacological Center MoH Ukraine, Kiev.2010–81c.

(received 24.11.2015, published online 28.12.2015)

(одержано 24.11.2015, опубліковано 28.12.2015)

