

УДК 616.853:612.275

Влияние карбамазепина и леветирацетама на эпилептиформную реакцию, вызванную ультразвуком у крыс линии КМ

Копаладзе Р.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».
125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Цель. Исследовать влияние карбамазепина и леветирацетама на ультразвуковую эпилептиформную реакцию (УЭР) у крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ), подтвердить пригодность ультразвука в качестве эпилептогенного раздражителя для тестирования антиконвульсантов.

Методы. На крыс КМ воздействовали ультразвуком. Использовали ультразвуковой излучатель Dazer II США (24.3 кГц; 116 дБ). Определяли параметры УЭР: латентный период двигательного возбуждения (ДВ) в секундах (1-60 с) и тяжесть судорожного припадка по 9-балльной шкале (0-9 баллов). В случае отсутствия реакции латентный период ДВ условно принимали за 60 с, а тяжесть судорожного припадка, как 0 баллов. В случае наличия ДВ без припадка тяжесть судорожного припадка оценивали, как 1 балл. В случае наличия припадка в зависимости от его формы тяжесть припадка оценивали от 2 до 9 баллов. Антиконвульсанты – карбамазепин и леветирацетам – вводили крысам внутривенно в дозе 30 и 80 мг/кг соответственно. Параметры УЭР оценивали до и после введения антиконвульсантов.

Результаты. Показано, что через 1–1,5 часа после введения карбамазепина и леветирацетама обнаруживается мощный протекторный эффект: судорожные припадки наблюдались лишь у 31% и 36,8% крыс соответственно. В целом, после введения антиконвульсантов, латентный период ДВ увеличивался, а тяжесть припадков снижалась. Протекторный эффект карбамазепина исчезал через 24 часа после его инъекций, и реакция на ультразвук восстанавливалась у всех крыс. В отличие от этого протекторный эффект леветирацетама сохранялся и через 24 часа: судорожные припадки наблюдались у 68,4% крыс, у остальных 15,7% крыс ДВ было без судорожного припадка (1 балл), а у 15,7% крыс реакция не наблюдалась вообще (0 баллов). В целом через 24 часа после введения леветирацетама латентный период ДВ оставался выше, а тяжесть судорог ниже фоновых и контрольных значений.

Заключение. На модели рефлекторной эпилепсии, вызванной ультразвуком у крыс КМ, установлено, что антиконвульсанты одинаково эффективны через 1-1,5 часа после их введения, однако леветирацетам оказывал более пролонгированный протекторный эффект по сравнению с карбамазепином. Эпилептиформная реакция, вызываемая ультразвуком у крыс КМ, может быть использована в качестве экспериментальной модели для тестирования антиконвульсантов.

Ключевые слова: ультразвуковая эпилептиформная реакция; крысы линии КМ; карбамазепин; леветирацетам; биоэтика.

Для цитирования: Копаладзе Р.А. Влияние карбамазепина и леветирацетама на эпилептиформную реакцию, вызванную ультразвуком у крыс линии КМ. Патогенез. 2019; 17(3): 41-46.

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.03.41-46

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 22.06.2019

Effects of carbamazepine and levetiracetam on epileptiform reactions induced by ultrasound in KM rats

Kopaladze R.A.

Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Aim. To study the effect of carbamazepine and levetiracetam on the ultrasonic epileptiform reaction (UER) in Krushinsky-Molodkina (KM) rats and to confirm the suitability of ultrasound as an epileptogenic irritant for testing anticonvulsants.

Methods. KM rats were exposed to ultrasound using a Dazer II (USA) ultrasonic emitter (24.3 kHz; 116 dB). The following parameters of UER were determined: latent period of motor reaction (MR) in seconds (1-60 s) and severity of convulsive seizure on a 9-score scale. The ultrasound exposure was either stopped upon the seizure onset or continued up to 60 s in case of lack of seizure. If there was no response to anticonvulsants the MR latency was conditionally taken for 60 s, and the seizure severity was graded as score 0. If MR was not accompanied by seizure the UER severity was graded as score 1. In presence of seizure, depending on the seizure form, its severity was graded as scores 2-9. The anticonvulsants, carbamazepine and levetiracetam, were administered intraperitoneally at doses of 30 and 80 mg/kg, respectively. UER parameters were assessed before and after anticonvulsant administration.

Results. In 1-1.5 hours after carbamazepine or levetiracetam administration, UER was observed only in 31.0% and 36.8% of rats, respectively; the MR latency increased while the seizure severity decreased. The protective effect of carbamazepine disappeared in 24 hours after the injections, and the response to ultrasound restored in 100% of rats. In contrast, the protective effect of levetiracetam persisted longer than 24 hours; seizures were observed in 68.4% of rats. Of the remaining rats, 15.7% had MR without seizures (score 1) and the other 15.7% had no response at all (score 0). In general, in 24 hours after the levetiracetam administration, the MR latent period remained higher whereas the seizure severity remained lower than the background and control values.

Conclusion. *On the model of ultrasound-induced reflex epilepsy, it was found that the anticonvulsants were equally effective at 1-1.5 hours after their administration; however, levetiracetam exerted a longer protective effect than carbamazepine. The UER in KM rats can be used as an experimental model for testing anticonvulsants.*

Keywords: *ultrasonic epileptiform reaction; Krushinsky-Molodkina rats strain; carbamazepine; levetiracetam; bioethics.*

For citation: Kopaladze R.A. [Effects of carbamazepine and levetiracetam on epileptiform reactions induced by ultrasound in KM rats]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(3): 41-46. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.03.41-46

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received: 22.06.2019

Введение

В настоящее время антиконвульсанты карбамазепин и леветирацетам находят широкое применение для лечения эпилепсии. В экспериментах карбамазепин эффективно подавляет судороги и высокочастотную разрядную активность на уровне одиночных нейронов, усиливает инактивацию натриевых каналов и задерживает восстановление их активности. Кроме того, карбамазепин снижает проводимость Ca^{2+} -каналов, влияет на синаптическую передачу, частично блокируя действие аспартата и глутамата, тормозит захват катехоламинов в высоких концентрациях, усиливает ГАМКергическое торможение [1, 2]. Карбамазепин в монотерапии эффективен в 75–85% случаев [3]. Эффективность леветирацетама в качестве монотерапии сравнима с карбамазепином. Оба препарата равноценно снижают частоту припадков по сравнению с таковой до лечения [4]. Леветирацетам может применяться практически при всех фокальных или генерализованных эпилептических синдромах, длительно сохранять свою эффективность [5–7], без отрицательных побочных эффектов [8]. Леветирацетам предотвращает рефлекторную эпилепсию у людей [9, 10] и оказывает позитивное влияние на познавательные функции у пациентов с эпилепсией [11]. Уникальный механизм действия леветирацетама заключается в том, что он связывается с гликопротеином SV2A синаптических везикул (этот белок необходим для нормальной нейротрансмиссии), регулируя выброс нейротрансмиттеров и снижая эпилептическую активность нейрона [5]. Помимо активации тормозных эффектов в мозге, леветирацетам блокирует в культуре ткани эпилептические разряды, вызванные бикакуллином и активацией NMDA-рецепторов, не влияя при этом на нормальное проведение возбуждения [12].

В настоящее время для моделирования судорожных состояний и тестирования антиконвульсантов широко используется рефлекторная эпилепсия грызунов. Под рефлекторными припадками понимается стимулированные сенсорными раздражителями судорожные припадки. Эпилептиформные припадки в ответ на сильный звук описаны у крыс, мышей и хомяков, и исследуются они в частности, и на линиях, специально выведенных на выраженность этого признака [13–20]. В этих работах в качестве эпилептогенного раздражителя, как правило, используется звук

звонка слышимой человеком частоты 20 кГц, 110–120 дБ. Сравнительно недавно нами было показано, что у крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ) в ответ на ультразвук (24 кГц, 116 дБ) эпилептиформная реакция возникает в 98% случаев. Ультразвуковая эпилептиформная реакция (УЭР) у крыс КМ характеризуется высокой стабильностью и воспроизводимостью [21].

Цель работы – дать оценку протекторных эффектов карбамазепина и леветирацетама, подтвердить пригодность экспериментальной модели УЭР для тестирования антиконвульсантов.

Материал и методы исследования

Всего в работе использованы 59 крыс-самцов линии КМ, весом 200–230 г в возрасте 4–6 месяцев. Животные получали брикетированный корм и питье в условиях свободного доступа. Индукция УЭР в наших экспериментах производилась следующим образом: крысу помещали в пластмассовый бачок высотой 0,5 м и диаметром 0,35 м. Бачок закрывали сверху металлической сеткой и направляли «луч» сигнала на крысу вертикально с расстояния 1 м. Сигнал отключали в момент наступления судорожного припадка, но если припадок не наступал, то действие ультразвука продолжали до 60 с. Использовали ультразвуковой излучатель Dazer II (США, частота излучения раздражителя 24,3 кГц, сила звука 116 дБ). Напряжение батарейки (Крона, 9V) контролировали с помощью мультитестера Defort DMM-600N. Эксперименты производили на двух опытных и двух контрольных группах крыс КМ. Антиконвульсанты вводили внутривентриально. Первой опытной группе крыс вводили карбамазепин в дозе 30 мг/кг. Карбамазепин (Carbamazepine в таблетках; АЛСИ фарма, Москва) готовили в виде эмульсии с добавлением 1–2 капель твина-80 с последующим разведением физиологическим раствором (ФР). Второй опытной группе крыс вводили 80 мг/кг леветирацетама (син. Кеппра, фирма УСВ Бельгия).

Объективными параметрами УЭР служили латентный период двигательного возбуждения (ДВ) в секундах и тяжесть судорожного припадка в баллах. Для тестирования антиконвульсантов параметры УЭР определяли трижды: за 2–3 дня до введения антиконвульсантов (фон) и после инъекции препаратов дважды: через 1–1,5 часа и через 24 часа. По такой

же схеме определяли указанные показатели у крыс контрольных групп, которым вводили в одном случае ФР с твином-80 (контроль I), а в другом – без твина (контроль II) в количествах, равных объему, вводимому опытным крысам. В случае отсутствия УЭР после введения антиконвульсантов латентный период ДВ условно принимался за 60 с, а тяжесть судорожного припадка – за 0 баллов. Тяжесть судорожного припадка оценивали по методу Л.В. Крушинского [13], модифицированному по 9-балльной шкале: 0 баллов – отсутствие реакции у крыс в ответ на непрерывное действие ультразвука в течение 60 с, 1 балл – ДВ без припадка; 2–3 балла – падение животного на брюшко с клоническими подёргиваниями всех конечностей; 4–5 баллов – падение животного на бок с тоническим сгибанием шеи, туловища и передних конечностей, клоническими подёргиваниями задних конечностей; 6–7 баллов – форма припадка отличается от предыдущей формы неполным тоническим напряжением задних конечностей; 8–9 баллов – форма припадка отличается от предыдущей полным тоническим напряжением всех конечностей. В случае 2-волновой реакции тяжесть припадка представляется четными числами (2, 4, 6, 8), а в случае 1-волновой реакции – нечетными числами (3, 5, 7, 9) [14]. Результаты экспериментов обрабатывали статистически с помощью стандартного пакета «SPSS Statistics 20». Поскольку полученные данные имели вид нормального распределения, достоверность различия между группами оценивали по t критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Данные представляли в виде среднего значения \pm стандартная ошибка ($M \pm m$).

Результаты исследования и обсуждение

Двигательное возбуждение (ДВ) в ответ на ультразвук протекает в основном в виде одной или двух волн. В случае 1-волновой реакции ДВ протекает непрерывно и завершается судорожным припадком. В случае 2-волновой реакции, первая волна ДВ обрывается временным торможением, после истощения которого, в результате непрерывного действия ультразвука возникает вторая волна ДВ и судорожный припадок. В нашей работе животные контрольных

групп (контроль I и II) в ответ на ультразвук давали эпилептиформную реакцию с судорожными припадками в 100% случаев. Опытные группы крыс, как и контрольные группы, до введения антиконвульсантов, также давали УЭР сопровождающиеся судорожными припадками в 100% случаев (фон).

В первой опытной группе крыс (16 крыс) через 1–1,5 часа после введения карбамазепина судорожные припадки наблюдались в 31% случаев, у 25% крыс ДВ протекало без судорожного припадка (1 балл), а у 43% крыс реакция на ультразвук отсутствовала (0 баллов). Кроме того, у 3 крыс из 5 через 1–1,5 часа после введения карбамазепина 1-волновое ДВ преобразовалось в 2-волновое ДВ. Аналогичный эффект наблюдался и во второй опытной группе крыс (19 крыс), через 1–1,5 часа после введения леветирацетама судорожные припадки наблюдались у 36,8%, у остальных в 31,6% крыс ДВ протекало без припадка (1 балл), а другой 31,6% крыс реакция на ультразвук отсутствовало вообще (0 баллов). У 5 крыс из 7 после введения леветирацетама 1-волновое ДВ преобразовалось в 2-волновое ДВ.

Различия между эффектами этих антиконвульсантов обнаруживается через 24 часа после введения. Так через 24 часа протекторный эффект карбамазепина исчезал и судорожные припадки наблюдались у всех крыс (100%). В отличие от этого протекторный эффект леветирацетама сохранялся и через 24 часа: судорожные припадки наблюдалось у 68,4% крыс, у остальных 15,7% крыс наблюдалось ДВ без судорожного припадка (1 балл), а у другой 15,7% крыс реакция не наблюдалась вообще (0 баллов). Параметры УЭР до и после введения антиконвульсантов, а также параметры контрольных групп крыс представлены в таблице.

Из представленных в таблице данных видно, что у контрольных групп крыс (I и II), параметры УЭР не отличались от фоновых значений как через 1–1,5 ч, так и через 24 ч после введения растворителей без антиконвульсантов. В первой опытной группе крыс через 1–1,5 часа после введения карбамазепина наблюдался мощный протекторный эффект – латентный период ДВ в с значительно увеличивался, а тяжесть припадка в баллах значительно снижалась, как

Таблица

Параметры УЭР у крыс КМ до и после введения антиконвульсантов

Группа	n	Латентный период ДВ (с)			Тяжесть судорожного припадка в баллах		
		Фон	После введения препаратов		Фон	После введения препаратов	
			1-1,5 часа	24 часа		1-1,5 часа	24 часа
Контроль I	12	6,8 \pm 1,2	8,0 \pm 1,2	6,3 \pm 1,2	8,2 \pm 0,4	8,5 \pm 0,3	8,3 \pm 0,3
Карбамазепин	16	8,4 \pm 0,5	39,5 \pm 4,7*	11,4 \pm 0,5	8,4 \pm 0,3	1,9 \pm 0,6*	8,1 \pm 0,2
Контроль II	12	7,9 \pm 1,3	8,8 \pm 1,3	8,8 \pm 0,9	8,3 \pm 0,3	8,0 \pm 0,4	8,7 \pm 0,2
Леветирацетам	19	8,6 \pm 1,7	33,4 \pm 4,6*	21,5 \pm 4,3*	7,9 \pm 0,3	2,3 \pm 0,6*	3,9 \pm 0,7*

Примечание: n – число животных в группе; * – различия между опытными и соответствующими контрольными группами крыс статистически значимы ($p < 0,05$ по критерию Стьюдента).

по сравнению с контрольными значениями, так и по сравнению с фоном ($p < 0,05$). Аналогичный эффект наблюдался и во второй опытной группе крыс через 1–1,5 часа после введения леветирацетама. Параметры УЭР через 24 часа у опытных крыс с карбамазепином восстанавливались и не отличались от контрольных и фоновых величин. В отличие от этого в случае с леветирацетама через 24 часа протекторный эффект сохранялся и достоверно отличался как от контрольных, так и фоновых значений ($p < 0,05$). Таким образом, указанные антиконвульсанты оказывают выраженный протекторный эффект на УЭР через 1–1,5 часа после их введения, но леветирацетам в отличие от карбамазепина обладает более пролонгированным протекторным эффектом.

Полученные нами данные о протекторном эффекте карбамазепина и леветирацетама на параметры УЭР согласуются с результатами других работ [22, 23], где показано, что карбамазепин в дозе 30 мг/кг и леветирацетам в дозе 80 мг/кг через 1–1,5 часа после их введения резко увеличивают латентный период ДВ и снижают тяжесть аудиогенных судорог. Кроме того, выявлено, что у многих животных после введения антиконвульсантов наблюдались преобразование 1-волнового ДВ в 2-х волновое ДВ. В этих работах для индукции аудиогенных судорог у крыс КМ использовали интенсивную звуковую стимуляцию слышимом для человека частоте и силе (20 кГц, 110–120 дБ). Особенности нашего подхода является то, что, во-первых, протекторный эффект антиконвульсантов оценивали по 9-бальной шкале, и не только через 1–1,5 часа, но и через 24 часа после их введения. Во-вторых, в качестве эпилептогенного раздражителя был использован ультразвук, что полностью соответствует концепции 3R.

В целом, все экспериментальные модели рефлекторной эпилепсии находятся в соответствии с правилами гуманной методологии эксперимента на животных. Эти правила наиболее четко были сформулированы в 1959 году Расселем и Берчем в виде концепции 3R (*Refinement, Reduction, Replacement*), где *Refinement* означает создание животным наиболее благоприятных условий содержания, минимизации боли и страдания в эксперименте; *Reduction* – использование в эксперименте стандартных животных высокого качества для получения воспроизводимых результатов на минимальном числе животных; *Replacement* – замена, когда это возможно, экспериментов на животных альтернативными методами [24]. Концепция 3R была поддержана законодательно Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях и Директивами Совета 86/609/ЕЕС [25, 26]. Экспериментальные модели рефлекторной эпилепсии не требует производить какие-либо сложные хирургические манипуляции, фиксации, введения в организм животного судорожных ядов. УЭР у крыс линии КМ возникает в естественном положении, а продолжительность УЭР лежит в пределах 1–60 с. Для сравнения отметим, что эпилептиформ-

ные припадки, вызванные внутрибрюшинным или подкожным введением пентилентетразола (70 мг/кг) длятся 30 мин и более. Эксперименты с ультразвуком можно приостановить в любой момент, тогда как при введении судорожных ядов это невозможно. Кроме того, использование генетически однородных крыс инбредной линии специально выведенных по чувствительности к звуковому раздражителю позволяет использовать меньше количество животных по сравнению с нелинейными (беспородными) животными. Предлагаемая модель УЭР удовлетворяет такие принципы гуманной методологии, как *Refinement* и *Reduction*. Что же касается замены животных альтернативными методами (*Replacement*), то не всегда возможно. Так, невозможно заменить рефлекторную эпилепсию вызываемой сенсорными раздражителями у живых животных, альтернативными методами. И, хотя большинство исследователей не видят конца использования живых животных в научных исследованиях, Европейская комиссия, тем не менее, ставит задачу полной замены опытов на животных альтернативными методами в качестве конечной цели [27]. Концепция 3R являются крайне полезной для гуманной и адекватного использования лабораторных животных в научных исследованиях для блага человека и животных, а также для изложения принципов гуманной методологии эксперимента и популяризации их в среде научной общественности [28–34].

Выводы

Ультразвук (24,3 кГц; 116 дБ) может служить в качестве эпилептогенного раздражителя для моделирования УЭР у крыс линии КМ.

Антиконвульсанты карбамазепин и леветирацетам оказывают мощное противосудорожное действие на УЭР через 1–1,5 часа после их введения: УЭР наблюдалась лишь у 31,0% крыс с карбамазепином и 36,8% крыс с леветирацетамом. У остальных крыс наблюдалось ДВ без припадка или отсутствие реакции вообще. В среднем под действием антиконвульсантов латентный период ДВ увеличивался, а тяжесть припадка снижалась.

Разница между этими антиконвульсантами обнаруживается через 24 часа после их введения: протекторный эффект карбамазепина исчезал и УЭР восстанавливалась у всех крыс (100%), тогда как протекторный эффект леветирацетама сохранялся у 42% крыс. В целом параметры УЭР (латентный период ДВ и тяжесть припадка) через 24 часа после введения антиконвульсанта в случае карбамазепина не отличалась от фоновых и контрольных величин, тогда как в случае леветирацетама достоверно отличались от фоновых и контрольных значений в сторону протекторного эффекта.

Ультразвуковая эпилептиформная реакция может служить экспериментальной моделью эпилепсии и тестирования антиконвульсантов.

Предлагаемая модель соответствует принципам гуманной методологии эксперимента на животных принятой в международной практике.

Список литературы

1. Rho J.M., Shankar R. The pharmacological basis of antiepileptic drug action. *Epilepsia*. 1999; 40(11): 1471-1483. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1999.tb02029.x
2. Willow M., Kuenzel E. A., Catterall W. A. Inhibition of voltage-sensitive sodium channels in neuroblastoma cells and synaptosomes by the anticonvulsant drugs diphenylhydantoin and carbamazepine. *Mol. Pharmacol.* 1984; 25(2): 228-234.
3. Heller A.J., Chesterman P., Elwes R.D., Crawford P., Chadwick D., Johnson A.L., Reynolds E.H. Phenobarbitone, phenytoin, carbamazepine, or sodium valproate for newly diagnosed adult epilepsy: a randomised comparative monotherapy trial. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 1995; 58(1): 44-50. DOI: 10.1136/jnnp.58.1.44
4. Brodie M.J., Perucca E., Ryvlin P., Ben-Menachem E., Meencke H.J.; Levetiracetam Monotherapy Study Group. Comparison of levetiracetam and controlled-release carbamazepine in newly diagnosed epilepsy. *Neurology*. 2007; 68(6): 402-408. DOI: 10.1212/01.wnl.0000252941.50833.4a
5. Panayiotopoulos C.P. *The Epilepsies, Syndromes and Management*. Bladon Medical Publishing; Oxfordshire; UK: 2005. 508 pp.
6. Labate A., Colosimo E., Gambardella A., Leggio U., Ambrosio R., Quattrone A. Levetiracetam in patients with generalized epilepsy and myoclonic seizures: an open label study. *Seizure*. 2006; 15(3): 214-218. DOI: 10.1016/j.seizure.2005.12.004
7. Kasteleijn-Nolst Trenité D.G., Marescaux C., Stodieck S., Edelbroek P.M., Oosting J. Photosensitive epilepsy: a model to study the effects of antiepileptic drugs. Evaluation of piracetam analogue, levetiracetam. *Epilepsy Res.* 1996; 25(3): 225-230.
8. French J., Eldrich P., Cramer J.A. A systematic review of the safety profile of levetiracetam: a new antiepileptic drug. *Epilepsy Res.*; 2001; 47(1-2): 77-90.
9. Steinhoff B. J., Trinka E., Wieser H.; DACH-LEV Study Group. Levetiracetam in patients with refractory epilepsy: results of the SKATE trial in Austria, Germany and Switzerland. *Seizure*. 2005; 14(7): 490-496. DOI: 10.1016/j.seizure.2005.08.005
10. Depondt C., Yuen A.W., Bell G.S., Mitchell T., Koepf M.J., Duncan J.S., Sander J.W. The long term retention of levetiracetam in a large cohort of patients with epilepsy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2006; 77(1): 101-103. DOI: 10.1136/jnnp.2005.064626
11. Gomer B., Wagner K., Frings L., Saar J., Carius A., Härle M., Steinhoff B.J., Schulze-Bonhage A. The influence of antiepileptic drugs on cognition: A comparison of levetiracetam with topiramate. *Epilepsy Behavior*. 2007; 10(3): 486-494. DOI: 10.1016/j.yebeh.2007.02.007
12. Perucca E. Clinical pharmacokinetics of new-generation antiepileptic drugs at the extremes of age. *Clin. Pharmacokinet.* 2006; 45(4): 351-363. DOI: 10.2165/00003088-200645040-00002
13. Крушинский Л.В. *Формирование поведения животных в норме и патологии*. М.: Изд-во. МГУ, 1960. 262 с.
14. Tacke U. *Audiogenic seizures in rats – an experimental study of a genetic model of epilepsy*. Thesis (doctoral). University of Kuopio, Kuopio, Finland; 1984. Available at: https://www.researchgate.net/publication/34137908_Audiogenic_seizures_in_rats_an_experimental_study_of_a_genetic_model_of_epilepsy/citations Retrieved: 07.05.2019
15. Семиохина А.Ф., Федотова И.Б., Полегаева И.И. Крысы линии КМ: исследование аудиогенной эпилепсии, сосудистой патологии и поведения. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2006; 56(3): 298-316.
16. Barrera-Bailón B., Oliveira J.A.C., López D.E., Muñoz L.J., García-Cairasco N., Sancho C. Pharmacological and neuroethological study of the acute and chronic effects of lamotrigine in the genetic audiogenic seizure hamster (GASH:Sal). *Epilepsy Behav.* 2017; 71 (Pt B): 207-217. DOI: 10.1016/j.yebeh.2015.11.00
17. García-Cairasco N., Umeoka E.H.L., Cortes de Oliveira J.A. The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related co morbidities: History and perspectives. *Epilepsy Behav.* 2017; 71(Pt B): 250-273. DOI:10.1016/j.yebeh.2017.04.001
18. Muñoz L.J., Carballosa-Gautam M.M., Yanowsky K., García-Atarés N., López D.E. The genetic audiogenic seizure hamster from Salamanca: The GASH:Sal. *Epilepsy Behav.* 2017; 71(Pt B): 181-192. DOI: 10.1016/j.yebeh.2016.03.002
19. Poletaeva I.I., Surina N.M., Kostina Z.A., Perepelkina O.V., Fedotova I.B. The Krushinsky-Molodkina rat strain: The study of audiogenic epilepsy for 65years. *Epilepsy Behav.* 2017; 71(Pt B): 130-141. DOI: 10.1016/j.yebeh.2015.04.072
20. Полегаева И.И., Костына З.А., Сурина Н.М., Федотова И.Б., Зорина З.А. Генетическая линия крыс Крушинского-Молодкиной как уникальная экспериментальная модель судорожных состояний. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017; 21(4):427-434. DOI 10.18699/VJ17.261
21. Копаладзе Р.А. Экспериментальная модель ультразвуковой эпилепсии на крысах линии Крушинского-Молодкиной (КМ). *Патогенез*. 2017; 15(1): 72-77. DOI:10.25557/GM.2017.1.6955
22. Федотова И. Б., Семиохина А.Ф., Косачева Е.С., Башкатова В.Е., Раевский К.С. Влияние ламотриджина и карбамазепина на развитие аудиогенной судорожной реакции у крыс линии Крушинского-Молодкиной. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1996; 59(6): 6-9.
23. Маликова Л.А., Федотова И.Б., Полегаева И.И., Раевский К.С. Противосудорожное действие леветирацетама при аудиогенной эпилептиформных припадках у крыс Крушинского-Молодкиной. *Нейрофармакология*. 2007; 70(6): 3-5.
24. Russel W.M.S., Burch R.L. *The principles of human experimental technique*. Methuen and Co. Ltd.: London, UK, 1959. 238 p.
25. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes*. Strasbourg: Council of Europe, 1986. 51 p.
26. Council Directive of 24 November 1986 on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animals Used for Experimental and Other Purposes Directive (86/609/EEC). *Official Journal of the European Communities*. 1986; 262: 1-29.
27. Louhimies S. Eu directive 2010/63/eu: Implementing the three rs through policy. *ALTEX Proc.* 2012; 1: 27-33.
28. Flecknell P.A. Refinement of animal use assessment and alleviation of pain and distress. *Lab. Anim.* 1994; 28(3): 222-231. DOI: 10.1258/002367794780681660
29. Van Zutphen L.F.M. In search of refinement. A challenge for laboratory animal science. *Baltic J. Lab. Anim. Sci.* 1997; 7(3): 153-162.
30. Festing M.F.W. Reduction of Animal Use: experimental design and quality of experiments. *Lab. Anim.* 1994; 28(3): 212-221. DOI: 10.1258/002367794780681697
31. Festing M.F.W. Reduction the use of Laboratory Animal by better experimental design. *Baltic J. Lab. Anim. Sci.* 2002; 12(1-2):7-16.
32. Balls M. Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. *Lab. Anim.* 1994; 28(3): 193-211. DOI: 10.1258/002367794780681714
33. The report and recommendations of ECVAM Workshop. Alternatives to the use of animals in higher education. *Baltic J. Lab. Anim. Sci.* 1999; 9(3):155-168. (Reprint from ATLA, 1999, 27, 39-52.
34. Копаладзе Р.А. Регламентация экспериментов на животных – этика, законодательство, альтернативы. *Успехи физиологических наук*. 1998; 29(4): 74-92.

References

1. Rho J.M., Shankar R. The pharmacological basis of antiepileptic drug action. *Epilepsia*. 1999; 40(11): 1471-1483. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1999.tb02029.x
2. Willow M., Kuenzel E. A., Catterall W. A. Inhibition of voltage-sensitive sodium channels in neuroblastoma cells and synaptosomes by the anticonvulsant drugs diphenylhydantoin and carbamazepine. *Mol. Pharmacol.* 1984; 25(2): 228-234.
3. Heller A.J., Chesterman P., Elwes R.D., Crawford P., Chadwick D., Johnson A.L., Reynolds E.H. Phenobarbitone, phenytoin, carbamazepine, or sodium valproate for newly diagnosed adult epilepsy: a randomised comparative monotherapy trial. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 1995; 58(1): 44-50. DOI: 10.1136/jnnp.58.1.44
4. Brodie M.J., Perucca E., Ryvlin P., Ben-Menachem E., Meencke H.J.; Levetiracetam Monotherapy Study Group. Comparison of levetiracetam and controlled-release carbamazepine in newly diagnosed epilepsy. *Neurology*. 2007; 68(6): 402-408. DOI: 10.1212/01.wnl.0000252941.50833.4a

5. Panayiotopoulos C.P. *The Epilepsies. Seizures, Syndromes and Management*. Bladon Medical Publishing; Oxfordshire; UK: 2005. 508 pp.
6. Labate A., Colosimo E., Gambardella A., Leggio U., Ambrosio R., Quattrone A. Levetiracetam in patients with generalized epilepsy and myoclonic seizures: an open label study. *Seizure*. 2006; 15(3): 214-218. DOI: 10.1016/j.seizure.2005.12.004
7. Kasteleijn-Nolst Trenité D.G., Marescaux C., Stodieck S., Edelbroek P.M., Oosting J. Photosensitive epilepsy: a model to study the effects of antiepileptic drugs. Evaluation of piracetam analogue, levetiracetam. *Epilepsy Res*. 1996; 25(3): 225-230.
8. French J., Eldrich P., Cramer J.A. A systematic review of the safety profile of levetiracetam: a new antiepileptic drug. *Epilepsy Res.*; 2001; 47(1-2): 77-90.
9. Steinhoff B. J., Trinka E., Wieser H.; DACH-LEV Study Group. Levetiracetam in patients with refractory epilepsy: results of the SKATE trial in Austria, Germany and Switzerland. *Seizure*. 2005; 14(7): 490-496. DOI: 10.1016/j.seizure.2005.08.005
10. Depondt C., Yuen A.W., Bell G.S., Mitchell T., Koeppe M.J., Duncan J.S., Sander J.W. The long term retention of levetiracetam in a large cohort of patients with epilepsy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2006; 77(1): 101-103. DOI: 10.1136/jnnp.2005.064626
11. Gomer B., Wagner K., Frings L., Saar J., Carius A., Härle M., Steinhoff B.J., Schulze-Bonhage A. The influence of antiepileptic drugs on cognition: A comparison of levetiracetam with topiramate. *Epilepsy Behavior*. 2007; 10(3): 486-494. DOI: 10.1016/j.yebeh.2007.02.007
12. Perucca E. Clinical pharmacokinetics of new-generation antiepileptic drugs at the extremes of age. *Clin. Pharmacokinet*. 2006; 45(4): 351-363. DOI: 10.2165/00003088-200645040-0000
13. Krushinsky L.V. *[The formation of animal behavior in norm and pathology]*. Moskva.: Izdatel'stvo Moskovskogo Gosudarstvennogo Universiteta. 1960. 262 p. (in Russian).
14. Tacke U. *Audiogenic seizures in rats – an experimental study of a genetic model of epilepsy. Thesis (doctoral)*. University of Kuopio, Kuopio, Finland; 1984. Available at: https://www.researchgate.net/publication/34137908_Audiogenic_seizures_in_rats_an_experimental_study_of_a_genetic_model_of_epilepsy/citations Retrieved: 07.05.2019
15. Semiokhina A.F., Fedotova I.B., Poletaeva I.I. [Rats of Krushinsky-Molodkina strain: studies of audiogenic epilepsy, vascular pathology and behavior]. *Zhurnal vysshei nervnoi deya tel'nosti imeni I.P. Pavlova. [I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity]*. 2006; 56(3): 298-316. (in Russian)
16. Barrera-Bailón B., Oliveira J.A.C., López D.E., Muñoz L.J., García-Cairasco N., Sancho C. Pharmacological and neuroethological study of the acute and chronic effects of lamotrigine in the genetic audiogenic seizure hamster (GASH:Sal). *Epilepsy Behav*. 2017; 71 (Pt B): 207-217. DOI: 10.1016/j.yebeh.2015.11.00
17. García-Cairasco N., Umeoka E.H.L., Cortes de Oliveira J.A. The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related co morbidities: History and perspectives. *Epilepsy Behav*. 2017; 71(Pt B): 250-273. DOI:10.1016/j.yebeh.2017.04.001
18. Muñoz L.J., Carballosa-Gautam M.M., Yanowsky K., García-Atarés N., López D.E. The genetic audiogenic seizure hamster from Salamanca: The GASH:Sal. *Epilepsy Behav*. 2017; 71(Pt B): 181-192. DOI: 10.1016/j.yebeh.2016.03.002
19. Poletaeva I.I., Surina N.M., Kostina Z.A., Perepelkina O.V., Fedotova I.B. The Krushinsky-Molodkina rat strain: The study of audiogenic epilepsy for 65years. *Epilepsy Behav*. 2017; 71(Pt B): 130-141. DOI: 10.1016/j.yebeh.2015.04.072
20. Poletaeva I.I., Kostyna Z.A., Surina N.M., Fedotova I.B., Zorina Z.A. [The Krushinsky-Molodkina genetic rat strain as a unique experimental model of seizure states]. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii. [Vavilov journal of genetics and breeding]*. 2017; 21(4): 427-434. DOI 10.18699/VJ17.261 (in Russian)
21. Kopaladze R.A. [Ultrasonic experimental model of epilepsy in Krushinsky-Molodkina (KM) rats strain]. *Patogenez. [Pathogenesis]*. 2017; 15(1): 72-77. DOI: 10.25557/GM.2017.1.6955 (in Russian)
22. Fedotova I.B., Semiochina A.F., Koshacheva E.S. Baskatova V.G., Raevskii K.S. [The effect of lamotrigine and carbamazepine of the development of audiogenic convulsive seizures in Krushinsky-Molodkina line of rats]. *Ekspieriment'naya i klinicheskaya farmakologiya. [Experimental and clinical pharmacology]*. 1996; 59(6): 6-9. (in Russian)
23. Malikova L.A., Fedonova I.B. Poletaeva I.I. Raevskii K.S. [Anticonvulsant effects of levetiracetam on audiogenic epileptiform seizures in Krushinsky-Molodkina rats]. *Neurofarmakologiya. [Neuropharmacology]*. 2007; 70(6): 3-5 (in Russian)
24. Russel W.M.S., Burch R.L. *The principles of human experimental technique*. Methuen and Co. Ltd.: London, UK; 1959. 238 p.
25. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes*. Strasburg: Council of Europe, 1986. 51 p.
26. Council Directive of 24 November 1986 on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animals Used for Experimental and Other Purposes Directive (86/609/EEC). *Official Journal of the European Communities*. 1986; 262: 1-29.
27. Louhimies S. Eu directive 2010/63/eu: Implementing the three rs through policy. *ALTEX Proc*. 2012; 1: 27-33.
28. Flecknell P.A. Refinement of animal use assessment and alleviation of pain and distress. *Lab. Anim*. 1994; 28(3): 222-231. DOI: 10.1258/002367794780681660
29. Van Zutphen L.F.M. In search of refinement. A challenge for laboratory animal science. *Baltic J. Lab. Anim. Sci*. 1997; 7(3): 153-162.
30. Festing M.F.W. Reduction of Animal Use: experimental design and quality of experiments. *Lab. Anim*. 1994; 28(3): 212-221. DOI: 10.1258/002367794780681697
31. Festing M.F.W. Reduction the use of Laboratory Animal by better experimental design. *Baltic J. Lab. Anim. Sci*. 2002; 12(1-2):7-16.
32. Balls M. Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. *Lab. Anim*. 1994; 28(3): 193-211. DOI: 10.1258/002367794780681714
33. The report and recommendations of ECVAM Workshop. Alternatives to the use of animals in higher education. *Baltic J. Lab. Anim. Sci*. 1999; 9(3):155-168. (Reprint from ATLA, 1999, 27, 39-52.
34. Kopaladze R. A. Regulation on animal experiments – ethics, legislations, alternatives. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk [Advances in Physiological Sciences]*. 1998; 29(4): 74-92. (in Russian)

Сведения об авторе:

Копаладзе Реваз Александрович — кандидат биологических наук, ведущий специалист клиники подопытных животных Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»