МЕДИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

==========

РАДОСЛАВ ЦВЕТАНОВ КЛИСУРОВ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ МЕТАБОЛИТНИ ЕФЕКТИ НА НЯКОИ АНТИЕПИЛЕПТИЧНИ ЛЕКАРСТВА

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

За присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Научна специалност: ФАРМАКОЛОГИЯ (вкл. ФАРМАКОКИНЕТИКА и ХИМИОТЕРАПИЯ)

Научен ръководител:

проф. д-р Надка Бояджиева, дм, дмн, Катедра по фармакология и токсикология, МФ, МУ – София

София,

2017 г.

СЪДЪРЖАНИЕ

ВЪВЕДЕНИЕ.....стр. 3

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР..... стр. 4

ИЗВОДИ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ АНАЛИЗ.....стр. 36

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....стр. 38

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....стр. 39

РЕЗУЛТАТИ.....стр. 46

ЗАКЛЮЧЕНИЕ НА РАЗДЕЛ РЕЗУЛТАТИ.....,,....стр. 80

ДИСКУСИЯ.....стр. 82

ИЗВОДИ.....стр. 92

ЛИТЕРАТУРА.....стр. 93

ПРИНОСИ.....стр. 114

ПУБЛИКАЦИИ.....стр. 115

Съкращения:

АЕЛ – антиепилептични лекарства

НЛР – нежелана лекарствена реакция

Т.м. –телесна маса

CYP 450 – цитохром P 450

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay

i.p. – интраперитонеално

GABA – гама-аминомаслена киселина

MTT – метил-тетразолиев бромид

PBS - фосфатен буфер

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Епилепсията е хронично заболяване на мозъка, което изисква при повечето пациенти продължително лечение с антиепилептични лекарствени продукти. Фармакотерапията на епилепсия е свързана и с ефекти на определени лекарства върху други функции като мозъчни, обменни, двигателни, паметови и т.н. Механизмите на действие на антиепилептичните лекарства са свързани с влияние върху регулаторните механизми на мозъка. Част от лекарствата могат да повлияват и механизми, регулиращи апетит, метаболизъм, затлъстяване и др. Има данни в литературата, че хроничното въвеждане на някои антиепилептични лекарства повлиява метаболизма.

Хипертония, захарен диабет, затлъстяване и атеросклероза са четири от водещите метаболитни заболявания, които са рискови за здравето и живота на хората. Причините за повишаващата се честота на тези здравни проблеми са много и включват както индивидуалните особености на човешкия организъм, така и факторите на околната среда. През последните години се увеличава броят на хората, страдащи от захарен диабет с или без хипертония, затлъстяване и други метаболитни нарушения. Посоченото поставя въпроса за механизмите на развитие на метаболитните нарушения, включително за роля на фармакотерапията. Нехормонални фармакологични лекарствени продукти могат да въздействат върху метаболитните процеси в организма. Една от групите лекарства с възможно влияние е тази на антиепилептичните фармакологични средства (някои от тях). Малко, до липсващи, са познанията за влиянието на някои антиепилептични лекарства върху регулацията на метаболизма. Те са средства за продължително приложение (понякога се прилагат с десетилетия) както при деца, така и при възрастни хора. Централните им механизми на действие, хроничното

им приложение и оскъдната налична информация (за някои от тях) относно промените, които оказват върху метаболизма, очертаха направления за настоящите експериментални фармакологични изследвания. В допълнение, отчитайки неизяснени факти за антиепилептични средства и тяхното влияние върху метаболитни функции, както и значимостта на търсене на причините за ежегодното увеличаване на броя на хората със затлъстяване, предиабет, или развит захарен диабет и нарушения в мастна и въглехидратна обмяна, фармакологичните изследвания на настоящия дисертационен труд се фокусират върху три използвани средства за лечение на епилепсия.

2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

2.1. Механизми на затлъстяване

Затлъстяването е сериозен медицински и социален проблем в много от развитите страни. Според статистиката на Световната здравна организация (СЗО) повече от 30% от населението на света страда от затлъстяване. Между 40% и 80% от населението над 25 годишна възраст в развитите страни има този проблем. Широкото разпространение на болестта е резултат от урбанизацията, намалената физическа активност, стрес, вътреутробни, генетични и епигенетични промени, наличието на високо-калорични храни и други фактори. [Tierney et al., 2008; Дедов, 2000].

Според СЗО диагнозата "метаболитен синдром" може да се приеме при наличие на поне 3 фактора от по-долу посочените:

• абдоминално затлъстяване (обиколка на талията при мъжете > 102 см и жени > 88 см);

• хипертония;

• високи триглицериди (> 1.7 ммол/л);

• нисък HDL холестерол;

• ниво на глюкоза в плазмата на гладно над 6.1 ммол/л или 2 часа след орален глюкозо-толерантен тест > 7.8 ммол / л.

Критериите за диагностика на метаболитен синдром се дискутират. Редица клиницисти приемат, че нарушенията във въглехидратния метаболизъм трябва да се диагностицират само на база на нивата на кръвна глюкоза на гладно. Други изследователи, включително в Европа, изискват провеждане на глюкозо-толерантен тест (ГТТ) на гладно и анализ на резултатите преди да се постави заключението за нарушен въглехидратен метаболизъм и обсъждане на метаболитно заболяване.

При оценка на метаболитните промени и степента на затлъстяване се прилага изчисляване на индексът на телесна маса (BMI). Прието е, че BMI има добра корелация с количеството мастна тъкан в организма и риска от развитие на метаболитни нарушения. СЗО го определя като основен диагностичен белег. BMI се изчислява по следната формула:

$$BMI = {}^{B}/_{p^2},$$

където BMI = индекс на телесна маса, B = тегло (кг), p^2 = ръст на квадрат (m^2).

Диагноза „затлъстяване" се поставя, когато BMI е по-голям от 30 кг/$м^2$. Наднормено тегло се определя тогава, когато индексът е между 25 кг/$м^2$ и 30 кг/$м^2$.

Затлъстяването се определя като прекомерно натрупване на мастна тъкан в организма на човека и животните, т.е. увеличаване на телесното тегло с повече от 20% в сравнение с идеалното тегло, което съответства за определената възраст и пол. Условията на живот и някои генетични фактори са част от причините за развитие на заболяването. Ендокринни

нарушения и мозъчни промени се приемат за причини на затлъстяване при някои хора. Анализът на литературните данни показва, че различни фактори (биохимични, метаболитни, поведенчески и др.) водят до повишено натрупване на мазнини и увеличаване на теглото [Бутрова и кол., 2004].

Хормонът лептин е сред факторите, които имат роля в развитието на затлъстяване [Stephanie et al., 2014]. Лептинът е полипептид, който се секретира от адипоцитите. Попаднал в кръвта, той преминава хематоенцефалната бариера и може да взаимодейства с рецептори в хипоталамуса. Ефектът му се изразява в чувство за ситост. Лептин стимулира симпатикуса и предизвиква засилена термогенеза. Установено е, че при хора със затлъстяване се наблюдава понижена чувствителност на лептиновите рецептори в мозъка на фона на повишени нива на лептин свързани с повишена секреция на хормона от адипоцитите. Допуска се, че лептинът има роля на обратна връзка в системата за контрол на енергетичните запаси на организма [Дедов и кол., 2000].

Известно е, че хипоталамусът в мозъка регулира чувствата на глад и ситост. Областта на латералния хипоталамус е свързана с чувството за глад. Вентромедиалният хипоталамус е отговорен за регулацията на ситостта. Различни невромедиатори регулират функциите на латерален и вентромедиален хипоталамус. Например: невропептидите соматолиберин и невропептид Y засилват апетита, а адреналин, норадреналин, серотонин, допамин го потискат [Белин и сътр., 2011]. Установено е, че посочените невромедиатори регулират не само апетита, но и честотата на прием на храна. Норадреналин и адреналин избирателно засилват приема на храна, която е богата на въглехидрати. Невротрансмитерът серотонин регулира чувството за ситост в организма. Взети заедно посочените факти ни дават основание да допуснем, че сложни взаимодействия между

невромедиаторите в мозъка участват в механизмите на контрол на апетит, метаболизъм и в патогенезата на метаболитни заболявания. В допълнение, нарушеният синтез и метаболизъм на невротрансмитери в мозъка се свързва с промени в нормалното тегло [Suzi Hong et al., 2014; Val-Laillet et al., 2015].

Освен централните механизми на регулация на метаболизма, в литературата са натрупани много данни за ролята на периферни фактори и клетки в патогенезата на затлъстяването. Такива важни клетки в регулацията на затлъстяването са адипоцитите. Те произвеждат различни вещества, които регулират метаболизма и в частност затлъстяването при животните и човека. Адренергичната медиация има роля както в мозъчните механизми, така и в периферните, които регулират метаболизма. В литературата са натрупани много факти, които документират ролята на рецепторите в адренергичната медиация (алфа и бета рецептори), в регулацията на скоростта на липолиза и отлагане на липиди в мастните депа [Frye et al., 2009; Collins et al., 2014; Jiang et al., 2014].

2.1.1. Усложнения и рискове при затлъстяване

Затлъстяването е хронично заболяване, което може да доведе до различни усложнения и рискове от развитие на заболявания. По-долу се спираме на най-честите усложнения и свързани със затлъстяване заболявания. Някои от усложненията, които се проявяват при нелечение на затлъстяване са рискови. Според някои изследвания има риск и от летален край [Аметов и кол., 2001].

Изследванията показват, че увеличаването на телесното тегло е свързано с повишаване на кръвното налягане. Различните механизми на това усложнение включват промени в транспортните системи и механизми, пренасящи глюкоза и липиди в тъканите, нарушения в

чувствителността на рецепторите за инсулин и невротрансмитери и други. При пациенти със затлъстяване и хипертония се установява по-ускорено развитие на атеросклероза. Публикувани са данни, че при увеличаване на телесното тегло с 10% се повишава концентрацията на холестерол в кръвната плазма с 0.3 mmol/l [Massie, 2002]. Проследявайки развитието на затлъстяване авторът документира, че увеличаването с 4,5 кг телесно тегло води до повишаване на систоличното кръвно налягане с 4.4 mmHg.

Ролята на абдоминалното затлъстяване се дискутира когато се търсят причини за сърдечно-съдови усложнения. Установено е, че при абдоминално затлъстяване по-често се развива хипертония и атеросклероза. Според препоръки на Европейското кардиологично дружество (2003) сравнително прост метод за идентифициране степента на абдоминално отлагането на мазнините е да се определи стойността на обиколката на талията. Рискът от метаболитни нарушения се увеличава при обиколка на талията 94 см - при мъжете и 80 см - за жени. При тези пациенти съществува и риск от развитие на застойна сърдечна недостатъчност

Някои автори документират и повишена склонност към тромбози при пациенти със затлъстяване. Установено е, че мастната тъкан е ендокринен орган, който синтезира биологично активни вещества: лептин, проинфламаторни цитокини и редица фактори, които намаляват активността на фибринолизата [Мамедов, 2005].

Има и друг аспект на разглеждания проблем – авторите на някой изследвания отричат ролята на затлъстяването и BMI като фактори за сърдечно-съдови заболявания или допускат, че влиянието на тези фактори върху смъртността е значително по-малко отколкото негативните последици от тютюнопушене, хипертония и хиперлипидемия [Jousilahti et al., 1996; Visscher et al., 2004].

Често срещано усложнение при затлъстяване е развитието на захарен диабет тип 2. По-долу подробно се спираме на механизмите на развитие на захарен диабет, което се определя и от изследванията по темата свързани с въглехидратен метаболизъм. Други усложнения при затлъстяване са промени в хормонални функции, репродуктивност, стомашно-чревни и чернодробни нарушения. Затлъстяването се свързва с ранна менопауза или намалена детеродна способност, включително развитие на поликистозен яйчник. Взети заедно, фактите публикувани в литературата показват, че затлъстяването е най-честата патология в метаболитните заболявания и изисква навременна диагноза и профилактика. В профилактиката се включват както хигиенно-диетични режими, физическа активност и други, така и изучаване влиянието на някои лекарствени средства, което е обект на настоящия труд.

2.2. Затлъстяване и захарен диабет тип 2.

Според експериментални и клинични изследвания, състоянието на въглехидратния метаболизъм зависи от съотношението на секреторната дейността на β-клетките на панкреаса и утилизацията на глюкоза от инсулиночувствителните тъкани. Повишеното отделяне на инсулин води до изтощение на β-клетките на панкреаса, намаляването на инсулин влошава усвояването на глюкоза от тъканите и опосредства развитието на хипергликемия на гладно, т. е. диабет тип 2 [Reaven, 2008].

През 1990 г. ендокринолозите въвеждат в медицинската практика употребата на нов термин "предиабет", който съчетава два вида нарушения в човешкия и животинския организъм: нарушен глюкозен толеранс и високи серумни нива на глюкоза на гладно. Предиабет е състояние, което предшества появата на захарен диабет тип 2 (инсулин-независим диабет). Предиабет се установява както при затлъстяване, така

и при хора на лечение с фармакологични средства, вкл. с антиепилептични лекарствени продукти.

Голям процент от пациентите с инсулин-независим захарен диабет и затлъстяване имат инсулинова резистентност. Това представлява понижена чувствителност на инсулиновите рецептори в периферните тъкани към инсулин. При тези условия инсулин намалено инхибира чернодробната глюконеогенеза и гликогенолиза и не стимулира поемането и усвояването на глюкоза в мускулните и мастните тъкани [Алмазов, 2000].

Патогенезата на инсулиновата резистентност при затлъстяване е разнородна по своя характер и се дължи на взаимодействието на различни фактори, като генетични, епигенетични, хормонални, имунни и др. В допълнение, ролята на възрастта и екологичните фактори се дискутира в механизмите на захарен диабет тип 2. С развитието на инсулинова резистентност настъпва компенсаторно повишаване на концентрацията на инсулин в кръвта. Хиперинсулинемията предизвиква увеличаване на отлагане на мазнини в мастните депа. В началния етап на развитие е установено, че хиперинсулинемията понижава нивата на кръвната захар, което увеличава апетита и повишава теглото. Посочените промени водят до увеличаване на мастната тъкан, което активира развитието на инсулинова резистентност. Така се създава "порочен кръг" на взаимодействие-мастна тъкан и инсулинови рецептори. Хиперинсулинемията и инсулиновата резистентност водят до увеличаване на натриевата реабсорбция в бъбречните тубули и повишават симпатиковия тонус [Sandhya et al., 2015]. Това води до стесняване на артериите и развитието на хипертония. Механизмът не е свързан единствено с ефектите върху съдовия ендотел. Хиперпродукцията на инсулин повишава тонуса на симпатиковата нервна система. Тя активира

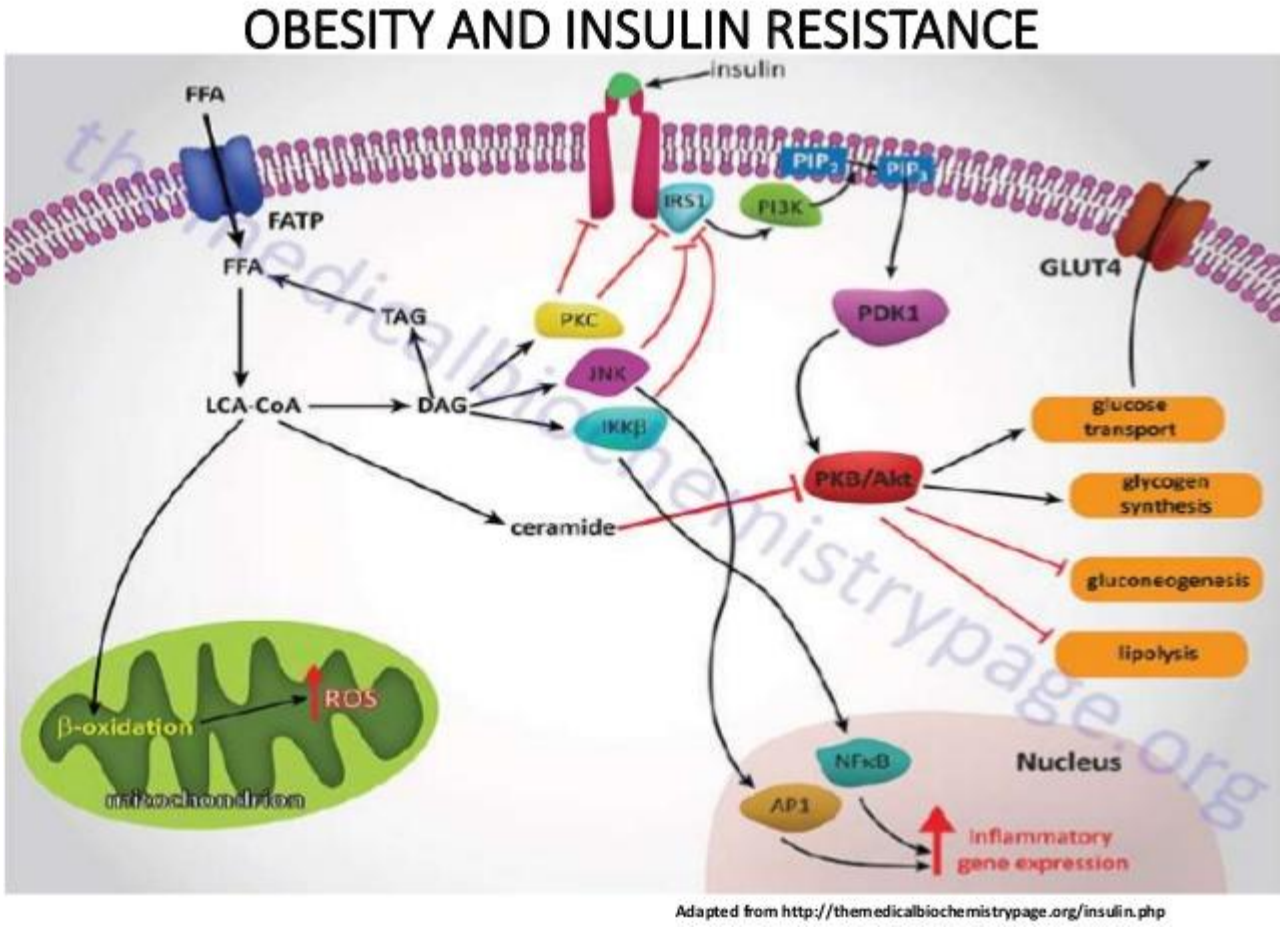
ренин-ангиотензин-алдостероновата система, което е съпроводено с повишаване на систоличното кръвно налягане. Активираната натриева реабсорбция в бъбреците и увеличеният обем на циркулираща кръв поради хиперинсулинемия повишават и диастоличното кръвно налягане.

Ренин-ангиотензин-алдостероновата система стимулира пролиферация на гладкомускулни клетки в артериите, хипертрофия на кардиомиоцитите и чрез стимулиране на синтеза на ендотелин води до ендотелна дисфункция. Синдромът на инсулинова резистентност, дори и в случаи на компенсирана нормогликемия, отключва изразени нарушения в микроциркулацията на миокарда. Те са свързани с удебеляване стената на капилярите, придружена от развитието на микроциркулаторнаендотелна дисфункция. Тези два фактора могат да доведат до нарушения в хемостазата. Клинически това се проявява с отсъствие на нощно понижение в кръвното налягане при пациентите с метаболитен синдром. При тях се променя геометрията на сърцето поради хипертрофия на миокарда. Това се изразява като концентрична хипертрофия с увеличена маса на лявата камера, съчетана с нормален ударен обем срещу повишено съдово съпротивление [Садовникова, 2007; Reaven , 2008; Мамедов, 2005**].**

При по-голямата част от пациентите със затлъстяване (84%) се открива и диабет тип 2. Ролята на адипокини (вещества, които се произвеждат от адипоцитите) и на чернодробната инсулинова резистентност се обсъжда в литературата [Leal, 2013]. Адипокините имат роля и в механизмите на сърдечно-съдовите нарушения при пациенти със захарен диабет и затлъстяване [Jeffrey et al., 2014]. При пациенти със захарен диабет се диагностицират редица усложнения като: микро- и макроангиопатия, полиневропатия, артропатия, офталмопатия, нефропатия и енцефалопатия и някои фатални усложнения като тромбоемболизъм, който много често ангажира белодробните и

коронарните артерии. Посочените усложнения се срещат в 57% от случаите на пациенти с наднормено тегло, което значително се различава от честотата на поява на тромботични усложнения при пациенти с нормално телесно тегло (23%) [Верткин, 2009]. Повечето лекари и изследователи се обединяват около заключението, че инсулиновата резистентност е водеща както в развитието на захарен диабет тип 2, така и в механизмите на усложнения на това заболяване. Това определя и методите за лечение на затлъстяване, диабет тип 2 и свързаните с тях сърдечно-съдови нарушения чрез корекция на инсулинова резистентност [Джанащия и кол, 2009]. В литературата е документирана връзка между инсулиновата резистентност, нарушения глюкозен контрол, затлъстяване, дислипидемия, хипертония и атеросклероза. Новите доказателства в патогенеза на различните прояви на метаболитния синдром показват, че е изключително важно за практиката прилаганите лекарства да осигурят не само добър гликемичен контрол, но и да повлияят развитието на тежки съдови усложнения [Bailey, 2001].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Инсулинова резистентност и затлъстяване са с много общи механизми на развитие. Съществува т.н. “ crosstalk” между вещества-продукти на адипоцити и развитие на инсулинова резистентност. Свободните радикали имат роля в механизмите на двете метаболитни патологични състояния (фиг.1):



Фиг. 1. Механизми на инсулинова резистентност и на затлъстяване. Фигурата е адаптирана с внесени промени от нас.

На фиг. 1 са посочени механизми, които се изследват и обсъждат в настоящия труд. Свободните радикали и ролята на митохондриите се изучава и обсъжда в научните изследвания. Антиепилептични лекарства повлияват някои от механизмите, илюстрирани на фигурата.

2.3. Фармакологични и нефармакологични средства при лечение на затлъстяване и захарен диабет тип 2

Диетата и физическите упражнения се прилагат в комплексното лечение на пациенти с метаболитен синдром, независимо от вида на прилаганата терапия. Нефармакологичното лечение може да бъде

ефективно и да контролира нивата на кръвната захар само в началните стадии на болестта (първата година от откриване на диабет) и само при някои пациенти. Медикаментозна терапия се предписва в случаите, когато диетата и повишената физическа активност в продължение на три месеца не постигнат нормални гликемични нива [José Marín-Peñalver et al., 2016]. При изследвания върху пациенти, спазващи хранителен режим при наличие на метаболитни нарушения за 3 години, се е понижил рискът от диабет с почти 58% [Valenci, 2004].

Диетата е важен елемент в комплексната терапия на инсулино-независим захарен диабет. Установено, че при прилагане на правилна диета се намалява висцералното затлъстяване на пациенти и се възстановява чувствителността на периферните тъкани към инсулин. Посоченото има роля както за профилактика, така и за лечение на метаболитния синдром.

Във фармакотерапията на метаболитен синдром се използват лекарствени продукти с различни механизми на действие, като:

- антихипертензивни лекарства от различни групи;
- антихиперлипидемични лекарства (статини и фибрати);
- антидиабетични лекарства, вкл. повлияващи инсулиновата резистентност;
- лекарства, повлияващи усвояването на глюкоза в стомашно-чревния тракт (акарбоза) [Чазова, 2004].

Редица съвременни антидиабетични средства навлизат в клиничната практика. Например: терапия с лекарства от фармакологичната група на тиазолидиндиони. Те имат антидиабетно действие, но при някои пациенти се наблюдава и повишаване на теглото, което се отчита като нежелан ефект. Повишеното тегло се свързва със засилване синтеза на протеини в мускулната тъкан и увеличаване обема на подкожните мазнини. Тази

терапия се съпровожда също с намалено количество висцерална мастна тъкан и подобрение в чернодробната функция. Получените резултати са потвърдени чрез използване на образна диагностика (магнитен резонанс) [Carey et al., 2002]. Ако пациентите, приемащи тиазолидиндиони, спазват нискокалорична диета, теглото остава почти без промяна [Richard et al., 2002]. Утвърдена е употребата метформин при пациенти със затлъстяване и предиабет или захарен диабет тип 2 [Hostalek et al., 2015; Shuyan et al., 2015]. Метформин понижава инсулиновата резистентност и се съобщават данни за намален риск от усложнения включително, на развитие на ракови процеси [Xing-kang He et al., 2016].

В заключение на разделите от 2.1 до 2.3: Метаболитните заболявания се увеличават през последните години. Изяснява се ролята на затлъстяването в механизми на развитие на захарен диабет тип 2. Инсулинова резистентност се развива по-често при пациенти със затлъстяване като този механизъм е доказан в развитието на предиабет и диабет тип 2. Фармакотерапията на метаболитните нарушения включва лекарствени продукти от различни групи. Изследванията, чиито резултати и заключения са цитирани по-горе, имат роля в изясняване на механизмите, чрез които антиепилептични лекарства повлияват метаболизма.

2.4. Епилепсия: видове и патогенеза.

Епилепсията е хронично заболяване на главния мозък с различна етиология. Заболяването се характеризира с повтарящи се пристъпи, възникващи на базата на свръхвъзбуда на определена популация неврони и се проявява с гърчове и различни преходни клинични (двигателни, сетивни, автономни, психични и поведенчески) и електрофизиологични

прояви. Около 50% от епилепсиите започват до 10, а 75% - до 20 годишна възраст. Това подчертава значението на терапията на епилепсия в детска възраст, което е свързано с настоящите изследвания.

Епилепсията е мултифакторно заболяване, развиващо се при взаимодействието на няколко фактора, които могат да бъдат генетични и придобити. В резултат от действието им се формира епилептогенно огнище, което е израз на микро- или макроскопски церебрални лезии [Kawamura M. et al., 2016; Al Wattar et al, 2016; Liu F. et al., 2016]. Предполага се, че различни патологично протичащи процеси в ЦНС, като възпаление, травма, тумор, кръвоизлив, исхемия и др., могат да опосредстват епилептогенезата [Dalic L, Cook MJ., 2016; Albrecht J, Zielińska M., 2016; Alyu F, Dikmen M., 2016]. Напоследък се доказва и участието на имунни фактори при някои епилепсии с развитието на антитела срещу рецепторите на глутамат. Епилепсия може да се развие вследствие на всяка директна или индиректна мозъчна увреда. Резултатът от действието на различните фактори е изграждане на епилептогенно огнище. То е образувано от увредени неврони и се характеризира с автономна възбудимост, дължаща се на повишена чувствителност към външни фактори. Някой външни фактори могат да отключат епилептични реакции и у здрави хора, а при пациенти с епилепсия могат да имат роля на провокиращи пристъп фактори. Епилептогенните неврони се характеризират със синхронизирана пристъпна невроналната активност [Castillo et al, 2016]. Водещи механизми в патогенезата на различните видове епилепсия са сумирани както следва [по учебника на проф. д-р П. Шотеков, 2015].

1.) Първичен дефект на невронната мембрана в резултат на нестабилност на остатъчните мембранни потенциали;

2.) Нарушение на механизма на натриевото предаване;

3.) Дефект на волтаж-зависимите калциеви канали;

4.) Дефицит на мембранния АТФ йонен транспорт;

5.) Първичен дефект на GABA-ергичните-инхибиторни системи;

6.) Повишена чувствителност на рецепторите към ексцитаторни невротрансмитери (глуматат, аспартат).

Международна класификация на епилептичните пристъпи (кризи)

I. Парциални пристъпи (кризи) - пристъпи с фокално начало.

А. Прости парциални пристъпи (кризи) - без промяна в съзнанието:

Б. Комплексни парциални пристъпи (кризи) - с нарушение в съзнанието:

В. Парциални пристъпи (кризи) с вторична генерализиция

II. Генерализирани пристъпи (кризи) - двустранно симетрични и без фокално начало:

А. 1. Абсанси;

2. Атипични абсанси;

Б. Миоклонични пристъпи;

В. Клонични пристъпи;

Г. Тонични пристъпи;

Д. Тонично-клонични пристъпи;

Е. Атонични пристъпи.

III. Некласифицирани епилептични пристъпи (кризи) – те се срещат и в детска възраст и изискват навременно лечение.

Разделението на епилепетичните гърчове **по честота** се променя в годините. Анализът на литературата показва, че през последните две десетилетия се внесоха новости в диагнозата на епилептични състояния, доказаха се вродени заболявания с гърчове и др. По-долу представяме най-честите епилептични гърчове (пристъпи, както следва:

- генерализираните тонично-клонични пристъпи (40%),

-вторично генерализираните тонично-клонични (20%),

-парциалните комплексни (20%),

-съчетаните парциални комплексни

- генерализирани тонично-клонични (12%).

По-редки са: парциалните прости (3%), абсансови, миоклонични и др. пристъпи (5%).

2.4.2. Диагноза и диференциална диагноза

Според П. Шотеков (2015) в диагнозата на епилепсия съществена роля има анамнезата на болния и неговите близки. От съществено значение е уточняването на началото и характеристиката на пристъпа. Това е относително лесно при простите парциални пристъпи поради липса на амнезия. При парциалните с комплексна симптоматика е съществено намирането на сведения за нарушението на съзнанието, наличието на автоматизми и постпристъпно объркване. При grand mal (голям епилептичен пристъп) се наблюдава грубо, внезапно нарушение на съзнанието и припадане. Фамилната анамнеза изяснява възможността за някои генетично свързани епилепсии или за наличието на фактор на предиспозиция.

В диагнозата на заболяването има реля и индивидуалният отговор на пациента към фармакотерапията. В това направление, епилепсиите се разделят на доброкачествени, с бързо и лесно повлияване от лечението и злокачествени, прогресиращи, фармакорезистентни (около 25%). Това е пряко свързано с развитието на епилепсията и нейната прогноза. По-дългото лечение с антиепилептични лекарства се включва и при анализ/поставяне на окончателната диагноза на епилепсия, но изсква ежедневно наблюдение на пациента за нежелани лекарствени реакции (НЛР). Например:

- Пациенти с идиопатични парциални епилепсии оздравяват в 99% през пубертета и лечението може да се спре около 16 г. възраст.
- Симптоматичните парциални епилепсии показват еволюция, зависеща от основния процес. При тях може да се допусне спиране на лечението след 2 г. свободни от пристъпи.
- Идиопатичните генерализирани епилепсии имат различна еволюция, която изисква фармакотерпия за различни периоди от време, включително и в детска възраст.
- Абсансовите детски епилепсии лесно се купират с валпроати и суксинимид и след 1-2 г. период без клинични прояви могат да се оставят без лечение.
- Ювенилната миоклонична епилепсия, абсансовата епилепсия на подрастващите и епилепсията с grand mal при събуждане изискват продължително лечение, поради наличието на рецидиви в 80-90% от случаите, независимо от добрия терапевтичен ефект.

В ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Познаването на епилепсията и нейната правилна диагноза е свързано с изследванията в настоящия дисертационен труд. Правилната диагноза определя и правилен подбор на антиепилептични лекарства за лечение на пациента. Настоящият дисертационен труд се фокусира върху епилепсията в ранна детска възраст и нежеланите ефекти на някои лекарствени продукти върху показатели на растежа (тегло, хормонални) и на метаболизъм. По-долу привеждаме факти от литературния анализ върху фармакотерапия на епилепсия.

2.4.3. Фармакотерапия на епилепсия.

Лечението на епилепсия е комплексно и включва: фармакотерапия, психотерапия, хигиенно-диетичен режим, хирургически и други терапевтични методи. Целта на лечението е: овладяване на пристъпите, премахване на психичните и психологични прояви и пълна ресоциализация на болните. Лечението трябва да се започне само след прецизно поставена диагноза. То е задължително при данни за мозъчна увреда или когато при нов пристъп има съществен риск за пациента. Първият пристъп може да е случаен или симптоматичен, във връзка с провокиращ фактор и в този случай се касае за епилептична реакция при друго основно заболяване. В този случай не се започва продължително лечение. Лечението е индивидуално и започва с монотерапия, която е показала ефективност за контролиране на пристъпите в 70-85% от случаите. В хода на лечението може да се стигне и до политерапия при някои пациенти, особено при тези с резистентна към фармакотерапия форма или при протичащите с повече от един вид пристъпи епилепсия. Фармакотерапията трябва да гарантира на пациента дълъг период без епилептични пристъпи и възможност да живее качествен живот.

Клиничните данни показват, че монотерапията на епилепсията се понася по-добре и е с по-малко нежелани странични ефекти, по-ниска токсичност и по-нисък риск от тератогенност [Schmidt D., 1995, Baulac M., 2003; Kanner A., 2005]. В исторически аспект, монотерапията се е усъвършенствала в годините и е подкрепяна от големи клинични проучвания. Например: при изследване, което е проведено през 1983 върху пациенти с епилепсия се е установило, че при 78% от пациентите, преминали на монотерапия, епилептичните припадъци не се възобновяват [Bennett H., 1983]. По-късно, рандомизирани проучвания са показали използването на ламотрижин или леветирацетам като начална

монотерапия на епилепсия [Faught E., 2007]. Анализът на публикуваните данни от различни проучвания показва, че за начална монотерапия се използват лекарствени продукти като: барбитурати, **карбамазепин,** фенитоин, етосуксимид, **валпроева киселина** и нейните производни, и някои нови като — ламотрижин, **топирамат**, окскарбазепин, леветирацетам [Di-Battista et al., 2016; Yasam et al., 2016; Nolan et al., 2016; Brandt et al., 2016; Almeida Campos et al., 2016; Jaco, 2016; Borgelt et al., 2016; Van Dijkman et al., 2016]. Три от посочените фармакологични средства (карбамазепин, топирамат и валпроева киселина) са обект на изследвания в настоящия дисертационен труд.

Според терапевтичния си спектър и ефекта си антиепилепичните лекарства се разделят на 3 групи:

1. АЕМ с най-широк спектър – ефективни са при всички видове пристъпи, включително и при типичните абсанси: валпроати, бензодиазепини, ламотрижин, топирамат;

2. АЕМ с по-тесен спектър – ефективни са при всички видове пристъпи, с изключение на типичните абсанси – фенобарбитал, фенитоин, карбамазепин, примидон, вигабатрин, габапентин, леватирацетам, окскарбазепин, тиагабин;

3. АЕМ с най-тесен спектър – ефективни са само при типичните абсанси – етосуксимид, триметадион.

Спектърът на действие се определя от възможностите на лекарството да въздейства върху един или повече от механизмите на епилептогенезата. Широкоспектърните лекарства осигуряват предимства, че могат да се прилагат без да има съществена опасност от неуспех и в случаите, когато първичната диагноза (първично генерализирана или парциална епилепсия) се уточнява, както и в случаите, когато епилептичното заболяване протича с разнообразни видове пристъпи [Gao

et al., 2016; Besag, 2016]. Има доказателства за ефективността на новите противоепилептични средства, в сравнение с традиционните, които включват по-добра лечебна активност, комбинирана с по-малко токсичност, по-добра поносимост и лекота на употреба, както и липсата на необходимостта да се провеждат редовно наблюдение на концентрацията на веществото в кръвта [Ochoa J., 2011].

Повечето изследователи и клиницисти се обединяват около утвърдените препоръки относно приложението на антиепилептични лекарства в зависимост от формите на епилепсия [French, 2005; NICE, 2006; Glauser, 2006]. Например: Американската академия по неврология предлага изборът на лекарства да зависи от индивидуалните характеристики на пациента. Препоръчва се, при епилептични пристъпи, имащи частична или пълна генерализация, да се използват: ламотрижин, топирамат, окскарбазепин, леветирацетам, а при новооткрита форма на абсанс епилепсия - ламотрижин. За лечение на възрастни пациенти с частично генерализирани епилептични пристъпи и рефрактерна на окскарбазепин епилепсия се препоръчва използването на топирамат като монотерапия, а габапентин и ламотрижин като допълнителна терапия [French, 2004]. Топирамат се препоръчва за лечение на рефрактерни генерализирани тонично-клонични пристъпи при възрастни, а ламотрижин, за лечение на гърчове при синдром на Lennox-Gastaut [French, 2004]. Анализът показва също препоръки за използване на нови противоепилептични средства, публикувани във Великобритания от Националния институт за епилепсия (NICE). Те са изработени на база на резултатите от клинични проучвания, които са доказали предимствата на „новите" лекарства пред "старите" лекарства или плацебо [NICE, 2006]. По принцип те са по-консервативни от препоръките на Американската

академия по неврология. NICE насочва към прилагането на „нови" лекарства в следните случаи:

-когато използването на по-старите лекарства няма предимства при даден пациент;

-когато използването на по-силни лекарства е противопоказано поради възможни взаимодействия с други вещества;

-когато предварително е установен негативен опит след употребата на тези лекарства като например по-лоша поносимост при жени в детеродна възраст [Beghi, 2001; NICE, 2006]. Друг пример са препоръките на Международната лига за борба срещу епилепсията, които са базирани на данни от клинични проучвания. Те се фокусират върху ефективността на лекарствата за лечение на новооткрита и не лекувана епилепсия [Glauser, 2006]. За лечение на възрастни пациенти с генерализирани тонично-клонични гърчове като най-ефективните лекарствени средства са посочени карбамазепин, ламотрижин, окскарбазепин, фенобарбитал, фенитоин, топирамат и валпроат. При пациенти с новооткрити парциални пристъпи за стандартна начална монотерапия се считат карбамазепин и фенитоин, а валпроат се счита за вероятно ефективен. Габапентин, ламотрижин, окскарбазепин, фенобарбитал, топирамат са ниско ефективни в тази терапевтична схема. Препоръките за лечение на пациенти с парциални гърчове включват карбамазепин, габапентин и ламотрижин - всички тези лекарства се характеризират с добре доказана ефективност [Glauser, 2006; Nair, 2016].

Има три категории пациенти, които изискват специално внимание: това са хората в старческа възраст, бременните и децата. Причината за пристъпите при пациенти в напреднала възраст са мозъчни заболявания от съдов или други характер, които водят до появата на огнищна симптоматика. Предвид съществуването на различни други

съпътстващи заболявания, монотерапията при възрастни пациенти е предпочитана за лечение на епилепсия [Pohlmann-Eden et al., 2005]. Лечение на деца и на възрастни пациенти с епилепсия изисква приложение на ефективни антиепилептични продукти с най-малък риск от нежелани влияния и задължително отчитане на лекарствените взаимодействия [Faught, 1999]. Фармакокинетичните характеристики на антиепилептичните лекарства при деца и пациенти в старческа възраст се отличават от тези при човек на зряла възраст. Променят се: свързването с плазмени белтъци, разпределението на веществото, неговите метаболизъм и екскреция. Това може да доведе до намаляване на свободното лекарство, което заедно със засилената чувствителност на рецепторите, увеличава риска от дозозависими странични ефекти [Bourdet, 2001]. По-възрастните пациенти приемат и понякога по-голям брой лекарства, свързано с придружаващи остри или хронични заболявания. Посоченото води до увеличаване на риска от фармакокинетични и фармакодинамични лекарствени взаимодействия. Например: фармакологичните средства карбамазепин, фенитоин, валпроат, барбитурати взаимодействат с често приемани в старческа възраст лекарства като варфарин, дигоксин, антиациди, антибиотици. Тези вещества в по-ниска степен взаимодействат с топирамат и окскарбазепин и почти не повлияват ламотрижин и леветирацетам [Pohlmann-Eden, 2005]. Лечението както на деца, така и на възрастни пациенти трябва да започне с най-малката възможна доза и с постепенно увеличаване на дозата на избраното лекарство [Pohlmann-Eden, 2005; Carlson et al, 2016]. За да се намали рискът от странични и токсични действия на фармакологичните средства, често се започва терапия с половината препоръчителната доза, като тя се увеличава до достигане на необходимата плазмена концентрация [Miller et al., 2016]. Фенитоин не трябва да се назначава на пациенти с нарушена

координация, а валпроат може да изостри есенциален тремор, при използване на карбамазепин може да се диагностицират нарушения на сърдечната проводимост [French, 2004; Shet, 2004].

Жените в детеродна възраст с епилепсия имат специфични хормонални и физиологични промени, които изискват специално внимание при подбора на антиепилептична терапия [Brain., 2005; Tettenborn et al., 1992; Tettenborn et al., 2006]. Антиепилептичните лекарства и заболяването епилепсия могат да повлияят на вероятността за бременност като повишават риска от поликистозен овариален синдром и нарушения на фармакокинетиката на пероралните контрацептиви. Основният фокус на изследванията е върху валпроат, въпреки че сигурна причинно-следствена връзка между приложението му и търсените странични ефекти за развитие на поликистозен яйчник не е достатъчно документирана. Въпреки това, някои изследователи са предложили да се извършва контрол на менструалния цикъл и андрогенните нива в кръвната плазма на жени с епилепсия по време на лечение с валпроат [Isojarvi, 2005].

Използването на АЕЛ при жени с епилепсия, получаващи орални контрацептиви, може да доведе до нежелана или непланирана бременност. Рискът от провал в контрацепцията има при жени, приемащи едновременно хормонални контрацептиви и антиепилептични лекарства, които индуцират ензим CYP450. Това се дължи на повишаване активността на чернодробните ензими (CYP450), което води до ускоряване метаболизма на естрогените до неактивни вещества, придружено с намаляване на концентрацията на естроген в кръвната плазма. Посоченото може да предизвика неочаквана овулация и бременност [Crawford, 2002; Crawford, 2005]. Оралните контрацептиви също повлияват терапията на епилепсия. Например: те намаляват

значително плазмената концентрация на ламотрижин, което води до повишен риск от епилептични гърчове по време на лечението с това лекарство.

Периодът на бременността е много важен в живота на жената и следователно трябва да се сведат до минимум факторите, които могат да увредят развитието на бебето. Доказано е, че развитието на ембриона и фетуса може да се повлият от терапията с антиепилептични лекарства [Tettenborn, 1992; Tettenborn, 2006].

Заключението от литературния анализ е: за лечение на епилепсия по време на бременност трябва да бъде гарантиран ефективен контрол върху развитието на епилептични пристъпи и да се сведат до минимум неблагоприятните последици от АЕЛ върху плода. За част от тях има данни, че са тератогени. Повтарящите се пристъпи по време на бременност са свързани с рискове и за майката и за плода, и често могат да бъдат свързани с недостатъчен прием на АЕЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ на разделите 2.4.1 до 2.4.3: Фармакотерапията на различните видове епилепсия включва лекарства от различни химични групи. Анализът на опита, публикуван в литературата показва, че лекарствените продукти на валпроева киселина и карбамазепин се включват често в терапията на пациенти от различна възраст и с различни клинични форми на епилепсия. Тези фармакологични средства са обект на настоящите изследвания относно влиянието им върху метаболизъм. Новите генерации антиепилептични средства също се прилагат с успех в т.н. “персонализирана” терапия на пациенти с епилепсия. Едно от тези лекарства е топирамат, който се прилага с успех за лечение на резистентни към редица антиепилептични лекарства епилепсии. Механизмът на действие на топирамат определя логично фокусиране върху ефектите на това лекарство върху механизми на регулация на

метаболизъм, което също е обект на научни изследвания в настоящия труд.

2.4.4. Нежелани лекарствени реакции на антиепилептични лекарства.

Най-честите НЛР на антиепилептични лекарства са от централната нервна система: поведенчески промени, седация, нарушения на съня и моторната координация, замайване, когнитивни нарушения и др. [Перова, 2004]. Новите противоепилептични средства могат да причинят същите нежелани реакции, но имат по-слабо изразен седативен ефект. Използването на лекарства, които по механизъм на действие повлияват GABA-невромедиация на мозък (вигабатрин и тиагабин) се свързва с висок риск от психични и поведенчески разстройства [Masie, 2002]. В клинични проучвания, психоза и депресия се наблюдават много по-често при използване на вагабатрин, отколкото в контролната група пациенти [Masie, 2002; Jousilahti, 2004 Visscher, 2004]. Нарушенията в поведението са една от водещите причини за намалена употреба на вагабатрин. При деца, лекувани с вагабатрин и габапентин, се наблюдават пристъпи на агресивност [Перова 2004]. При лечение с тиагабин и **карбамазепин** може да се развие депресия [Алмазов, 2000]. Ламотрижин е с умерена антидепресивна активност [Джанашия, 2009].

Нарушена концентрация може да се наблюдава при терапия с **топирамат**, зонисамид и тиагабин. **Топирамат** води до затруднен говор с трудно намиране на подходящата дума. При тиагабин се наблюдава афазия [Садовникова, 2007]. Разстройства, свързани с тревожност, раздразнителност, нервност и объркване, са по-чести при лечение с тиагабин и зонизамид. [Верткин, 2009]. Двигателни разстройства са относително чести при терапевтични схеми включващи габапентин,

тиагабин и топирамат. Често срещана НЛР при лечение с леветирацетам е умората [Bailey, 2001].

Централните НЛР обикновено се появяват в началния етап на лечението, като корелират с концентрацията на лекарството в кръвта и изчезват при намаляване на дозата или спиране приема на лекарства [Садовникова, 2004]. При пациенти в напреднала възраст, антиепилептичните лекарства могат да причинят световъртеж и повишен риск от падане и свързаните с това усложнения [Bailey, 2001; Nichols, 2008].

Някои лекарства могат да засилят епилептичните пристъпи. [Miyazaki, 2001]. Посоченото може да се обясни със следното: първо - проява на токсичност, и второ - наблюдаваните пристъпи да са основен страничен ефект на лекарството [Diamant, 2003]. В първия случай лечението на този нежелан ефект е свързано с намаляване на дозата или спиране приема на лекарството. Вторият механизъм е често срещан при пациенти, приемащи карбамазепин. Лекарството най-често изостря абсанси, миоклонични пристъпи, атонични и при някои пациенти генерализирани гърчове [Diamant, 2003]. Фенитоин и вагабатрин могат да предизвикат по-чести генерализирани гърчове, а габапентин и тиагабин – миоклонични пристъпи. Когато бензодиазепини се прилагат интравенозно е описано развитие на тонични пристъпи [Diamant, 2003].

Честа НЛР на редица антиепилептични лекарства е треморът. Той възниква при приблизително 10% от пациентите, лекувани с валпроева киселина. При деца честотата на този НЛР е 15% [Перова, 2004]. Треморът е дозо-зависим и обратим [Carey, 2002]. При възрастни пациенти, диагностицирането на валпроат-зависим тремор е трудно, поради постепенното развитие на симптомите и сходството на клиничните прояви с болестта на Паркинсон [Richard, 2002]. Тремор

могат да предизвикат и фармакологичните средства топирамат, тиагабин, габапентин, карбамазепин и окскарбазепин [Перова, 2004, Садовникова, 2007]. С токсично влияние върху ЦНС се описват и редица други по-редки НЛР. Например: антиепилептичните лекарства могат да причинят различни зрителни увреждания. Диплопия е най-типична НЛР за терапията с карбамазепин, но може да се наблюдава и при използването на други лекарства като окскарбазепин, топирамат, габапентин и ламотрижин [Дедов, 2001; Reaven, 2008].

Пациентите, лекувани продължително с фенитоин, може да развият предимно сетивна периферна невропатия. При 15% от пациентите, приемащи топирамат, се развива парестезия на крайниците [Reaven, 2008].

Много публикувани резултати от клинични изследвания са съобщени и за НЛР на различни антиепилептични средства върху кожата. По-долу представяме обобщено данни за кожни обриви, както следва [Mattson 1985; Levinson, 1999; Chadwuik, 2000; Guberman, 2000; Reaven, 2008; Садовникова, 2009] :

- валпроева киселина, топирамат и габапентин предизвикват по-редки и преходни кожни обриви;
- при възобновяване на лечението с карбамазепин или ламотрижин, повторно обрив обикновено не се наблюдава;
- при повторната употреба на фенитоин е възможно кожният обрив да се повтори със същата тежест;
- рискови фактори за развитие на кожни обриви при лечение с ламотрижин са: ранна детска възраст, бързо повишаване на дозите и прилагането на лекарството в комбинация с валпроева киселина;

- при лечение с окскарбазепин може да се наблюдава обрив при 16-27% от пациентите свръхчувствителни към карбамазепин. Между карбамазепин и окскарбазепин е възможна кръстосана сенсибилизация;
- сравнителни проучвания показват, че окскарбазепин причинява обриви по-рядко от карбамазепин [Yung, 2000] и фенитоин [Baulac, 1997] но по-често от валпроева киселина;
- съобшава се и за различни видове кожен обрив като: уртикария, пурпура, еритема мултиформе и ексфолиативен дерматит [Engel, 1997; Engel, 2014].

Антиепилептичните фармакологични средства могат да предизвикат редки, а някои от тях тежки усложнения. Например: синдром на Stevens-Johnson и токсична епидермална некролиза. Смъртността при токсична епидермална некролиза, която е предизвикана от АЕЛ е около 30% [Bourdet, 2001; Cramer, 1995]. Синдром на Stevens-Johnson и токсична епидермална некролиза са регистрирани при използване и на други АЕЛ като: зонизамид, фенитоин, фенобарбитал и ламотрижин [Perucca, 1998]. Рискът от развитие на тези НЛР при лечението с посочените лекарства е висок. Лечението изисква комплексна терапия и ранна диагноза на кожното усложнение [Tagloe, 1985; Krauss, 1995; Krauss, 2008].

Сериозни кожни реакции съчетани с треска, обрив, хепатит или лезии на висцералните органи са регистрирани при лечение с карбамазепин [Guerrini, 1998].

В литературата са съобщени различни НЛР при лечение с различни АЕЛ, например: фенитоин често предизвиква хиперплазия на венците, загрубяване на лицето и хирзутизъм при деца и юноши [Reaven, 2008]. При прилагане на валпроева киселина и окскарбазепин може да се появи алопеция. Под влияние на фенитоин и фенобарбитал при някои пациенти се развива контрактура на Дюпюитрен - скъсяване сухожилията на

дланите и ходилата [Reaven, 2008]. В редки случаи, при лечение с фенитоин, етосуксимид, карбамазепин, примидон и валпроева киселина може да се появи кожна автоимунна промяна-лупус [Glauser, 2005]. Синдром на свръхчувствителност при използване на фенитоин, карбамазепин, фенобарбитал и ламотрижин е с риск 1: 3000 [Miller, 2005], а смъртност се наблюдава само при 10% от случаите [Nousiainen, 2000].

Рискът от смъртност се дължи на увреждане на бъбреци, сърце, развитие на спленомегалия [Faught, 1999], както и на хематологични нарушения-левкоцитоза с атипична лимфоцитоза и еозинофилия [Chadwick, 1996].

Установено е, че някои АЕЛ претърпяват биотрансформация в черния дроб под влиянието на цитохром Р450 ензими и се образува междинен метаболит, който стимулира имунологичен отговор в тялото и може да доведе до смърт на клетките [Kramlinger, 1997]. Има данни, че пациентите, развиваши синдром на свръхчувствителност, не са способни да детоксикират междинния метаболит поради генетично обусловен дефицит на чернодробния ензим [Gubermann, 1999].

Част от НЛР на антиконвулсанти са свързани с техния ефект върху ензимите на цитохром Р450 системата. Някои от тези лекарства са мощни индуктори на чернодробните ензими, като: фенитоин, фенобарбитал, карбамазепин, етосуксимид. Слаби индуциращи свойства имат тиагабин, топирамат и ламотрижин. Валпроевата киселина, обаче, може да инхибира ензимите на цитохром Р450 [Vitorio, 1998]. Индуцирането на чернодробните ензими довежда до увеличаване времето за метаболизиране на ендогенните вещества. Например, фенобарбитал и фенитоин могат да доведат до метаболитни нарушения в превръщането на витамин D в активния му метаболит [Spielberg, 2005; Gennis, 2004]. Това предизвиква намалена костна плътност и нарушен метаболизъм на калций

по време на лечение с антиконвулсантни индуктори на чернодробните ензими. С цел да се открие и предотврати остеомалацията при пациенти, получаващи дългосрочно антиепилептично лечение, изследователите препоръчват периодично ултразвуково определяне на костна плътност [Gennis, 1991]. За предотвратяване на костни лезии при дългосрочно използване на фенобарбитал, фенитоин и карбамазепин е показан приемът на калций или витамин D-съдържащи препарати [Silverman, 1988].

При новородени, особено недоносени, чиито майки са приемали по време на бременността антиконвулсанти, индуциращи чернодробните ензими, са описани хеморагични усложнения в следствие на засилен метаболизъм на витамин К, и понижаване на нивото му в кръвта [Pellock, 1997]. В резултат на ензимна индукция се наблюдава понижение на серумните нива на фолиева киселина [Temkin, 1999], което при дългосрочното лечение може да доведе до мегалобластна анемия.

Лечението с карбамазепин е свързано с риск от появата на кардиотоксичност. Тя се проявява със силно потискане активността на възбудно-проводната система на сърцето до развитие на атриовентрикуларен блок. Понякога може да се потисне и активността на синусовия възел. Кардиотоксичността на лекарството се проявява особено изразено при пациенти с тежки сърдечно-съдови заболявания [Shorvon, 1996].

Лекарствените взаимодействия между АЕЛ имат сложен механизъм и е трудно да се предскажат. Комбинираното лечение винаги е свързано с повишен риск от нежелани реакции. В много случаи има повишена токсичност, която не се придружава от подобрен терапевтичен ефект. С цел предотвратяване на сериозни странични ефекти, когато се използва комбинирана терапия, се препоръчва мониториране на плазмените нива на веществата [Vittorio, 1995]

2.4.5. Влияние на антиепилептични лекарства върху метаболитни и хормонални показатели.

Както епилепсията, така и антиепилептичните лекарства предизвикват метаболитни промени в мозък. Документирани са промени в подкорието на мозък, променен е и метаболизма в таламус и подкорови ядра при епилептичен гърч [Sperling et al., 1990]. Ролята на глюкозния транспортер в механизмите на метаболитните промени в мозък при епилепсия е документирана [Engel et al., 2014]. Изследвания върху антиепилептични фармакологични средства и техните ефекти върху метаболизъм са публикувани. Фармакогенетични механизми се допускат в тези механизми [Klotz, 2007].

Сред честите нежелани реакции при приложение на антиепилептични средства е промяната в апетита и телесното тегло. Механизмът, по които се осъществява този страничен ефект е неизвестен, но най-често се асоциира с влиянието на тези вещества върху хипоталамуса и други централни структури.

Повишено телесно тегло може да се наблюдава при прилагането на валпроева киселина [Перова, 2008; Садовникова, 2008; Reaven, 2008]. При юноши и млади хора този страничен ефект се проявява по-често, отколкото при възрастни пациенти. [Перова, 2008]. Клиничните проучвания доказват, че по време на лечението с валпроева киселина 57% от пациентите са повишили теглото си с 4 кг [Wong, 2000]. При нормален хранителен и дневен режим 50% от възрастните пациенти също повишават теглото си (средно 7 кг) [Camfield, 1986]. Проведено ретроспективно изследване при деца е установило подобно увеличение на телесното тегло при голям брой от тях [Haidukewych, 1986]. Този нежелан

ефект при валпроева киселина е дозо-зависим и може да се коригира чрез промени в хранителния режим и подходящи физически натоварвания.

При малка част от пациентите, приемащи продукти на валпроева киселина, може да се прояви противоположен страничен ефект- анорексия [Садовникова, 2008]. Този проблем е по- често срещан страничен ефект при терапия със зонизамид и карбамазепин и по-рядко с продукти на валпроева киселина [Перова, 2008]. Понижаване на телесното тегло се наблюдава и под влияние на етосуксимид и топирамат [Алмазов, 2000].

Промени в телесното тегло се наблюдават и при част от пациентите, приемащи вигабатрин. В мултицентрово проучване, проведено в Канада, се е установило повишение в теглото при възрастни хора с 3,7 кг [Sano, 1981]. По-слабо изразено покачване на теглото, се наблюдава при лечение с габапентин и ламотрижин [Садовникова, 2008].

При пациенти, приемащи антиконвулсанти, са наблюдавани симптоми на нарушени **хормонални функции**. При мъже с епилепсия често се намаляват либидото и сексуалната потентност [Kugoh, 1986], а жените изпитват нарушения в усещането за сексуална възбуда [Zaccara, 1985]. Известно е, че при терапия с антиепилептични лекарства се променят нивата на циркулиращите полови хормони [Asconape, 1993]. Някои противоепилептични средства намаляват нивата на свободен тестостерон в кръвта чрез:

- стимулиране синтеза на свързващ половите хормони глобулин,
- засилване превръщането на тестостерон до естрадиол от ароматазата [Binek, 1991; Dreyfus, 1997].

През последните години се натрупват данни за развитие на поликистозен овариален синдром при жени на продължително лечение с валпроева киселина [Otusbo, 1995; Amelsvoort, 1994]. Неговите клинични прояви включват менструални нарушения, хирзутизъм и затлъстяване.

Това води до безплодие при 50% от пациентите. При 70% от пациентките се наблюдава дислипидемия, а при 40% - нарушение в глюкозния толеранс [Otusbo, 1995]. Пациенти с поликистозен овариален синдром са с повишен риск от рак на ендометриума. В допълнение, част от тях имат инсулинова резистентност.

Редица проучвания документират, че поликистозния овариален синдром е свързан със синдрома на инсулинова резистентност, който се развива при генетично предразположени жени в резултат от повишаване на теглото по време на лечение с продукти на валпроева киселина. Корекция на инсулиновата резистентност се извършва с помощта на хранителен режим, съчетан с подходящи физически натоварвания. За да се предотврати проявата на поликистозен овариален синдром в случаите, когато увеличаването на теглото не може да се коригира по този начин, следва да се замени валпроевата киселина с други антиконвулсанти. Резултатите от ретроспективни проучвания показват, че дългосрочната употреба на антиконвулсанти е рисков фактор за рак на яйчника [Brewerton, 1994].

При терапия с фенитоин и карбамазепин се установява намаляване на концентрациите на тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3) в кръвта. Същевременно тези лекарства изместват Т3 и Т4 от свързването им с плазмени протеини, следователно нивото на биологично активна фракция несвързан хормон обикновено не се променя [Nielsen, 1999]. За да се потвърди статуса на еутиреоидни пациенти с ниски концентрации на Т3 и Т4, трябва да се определи нивото на тироксин-стимулиращ хормон [Nielsen, 1999].

Топирамат е антиепилептично лекарство, което причинява загуба на тегло и ефектът му е зависим от дозата [Перова, 2004] Топирамат е одобрен за лечение на мигрена, главоболие, биполярни заболявания и

епилепсия. Топирамат, според някои по-нови изследвания, увеличава термогенезата [Massie, 2002]. Новите лекарствени продукти, съдържащи топирамат, са с променен профил на освобождаване. Най-често при тях се постига удължено освобождаване на активното лекарствено вещество. При тези продукти се постига подобряване в плазмените концентрации на глюкоза и инсулин [Jousilahti, 1996]. Комбинацията на топирамат и фентерамин има засилен ефект по отношение на апетита и усещането за ситост.

Някои невромедиатори, които участват в механизмите на действие на антиепилептични средства имат роля в контрола на апетита и ситостта. Това се отнася особено за катехоламините – адреналин, норадреналин и серотонин. Те имат пряко влияние върху енергийния баланс. Те имат влияние и върху развитието на някои заболявания като затлъстяване и депресия. Това определя засилените проучвания на вещества, които биха повлиявали тези медиаторни системи, като бъдещи лекарства срещу затлъстяване, при проблеми с апетита и някои депресивни разтройства.

ИЗВОДИ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ АНАЛИЗ:

1. Епилепсията е хронично заболяване, което изисква продължително лечение както с класическите (прилагани от десетилетия) лекарствени продукти, така и с най-новите групи антиепилептични лекарства.

2. Редица нежелани ефекти са документирани за отделни антиепилептични фармакологични средства. Сред тях са и влияния върху хормони, апетит и тегло на пациентите, промени в показателите на метаболизма с риск от метаболитни промени.

3. Отчитайки хроничното протичане на заболяването епилепсия, необходимостта от продължително лечение с антиепилептични лекарства, както и честото включване на карбамазепин, валпроева киселина или топирамат в лечение на пациенти от двата пола и на различна възраст, изясняването на промените в метаболизма има съвременно значение.

4. Затлъстяване и захарен диабет тип 2 са социално значими заболявания, за които се търсят причини и една от тях е свързана с ефекти на нехормонални лекарства върху метаболизъм. Антиепилептичните лекарства са недостатъчно проучени в направление на влияния върху метаболизъм.

5. Основание да се изследват три фармакологични средства валпроева киселина, карбамазепин и топирамат върху показатели на метаболизъм на плъхове в период на растеж са: а) малко данни в анализираната литература за експериментални проучвания в това направление; б) важното значение на детската възраст за метаболизма в годините на възрастен човек и риска от увреждания при продължително лечение с посочените средства; в) въвеждането на топирамат в педиатрията, както и опитът с по-рано въведениете валпроева киселина и карбамазепин за лечение на някой форми на епилепсия при деца.

ЧАСТ ВТОРА: САМОСТОЯТЕЛНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел на проучването е да се изследват ефектите на антиепилептични фармакологични средства валпроева киселина, топирамат и карбамазепин върху апетит, хранително поведение, някои невромедиатори и показатели на метаболизъм при мъжки и женски експериментални плъхове в период на растеж.

За да се постигне посочената цел са поставени следните задачи:

1. Да се проучат ефектите на три антиепилептични фармакологични средства- валпроева киселина, карбамазепин и топирамат върху общо тегло и хранително поведение на животни с или без експериментално затлъстяване.

2. Да се проучат ефектите на топирамат върху хормоните инсулин и лептин и показатели на въглехидратна и мастна обмяна на плъхове с или без затлъстяване.

3. Да се проучи ефектът на топирамат, валпроева киселина и карбамазепин върху нивата на катехоламини в мозъка на плъхове.

4. Да се проучи влиянието на висококалорийна диета върху нивата на катехоламини в мозък на плъхове.

5. Да се проучат ефектите на топирамат върху свободни радикали в мозъка на плъхове с или без затлъстяване.

6. Да се проучат сравнително ефектите на топирамат и валпроева киселина върху показатели на метаболизъм (плазмени нива на глюкоза и липиди) на потомството на бременни животни, които са третирани с посочените фармакологични средства по време на бременността.

МАТЕРИАЛ И И МЕТОДИ

Експериментите са проведени в съответствие с изискванията, изложени в "Принципи на лабораторни грижи за животните" (NIH публикация No. 85_23, преработен 1985), както и правилата на Етичния комитет на Медицинския университет в София. Опитите бяха извършени върху неполовозрели мъжки и женски плъхове (общ брой 186) на възраст 25 дни (начало на изследванията). Част от опитите бяха проведени и върху половозрели мъжки плъхове (брой =24; възраст 3 месеца). Животните бяха разпределяни в групи от 5-8 животни. Всички животни бяха отглеждани на свободен достъп до вода и храна. 90 неполовзрели плъхове бяха поставени допълнително и на диета чрез захранване с висококалорийна течна мастна храна и ядки (слънчогледови и фастъци) с цел развитие на модел на затлъстяване. Използван бе публкуваният опит на д-р Теодора Ханджиева Дърленска (дисертационен труд, 2010). Във връзка със задачите на научното изследване, неполовозрелите плъхчета бяха отделяни от майките на 25-ия ден от раждането, разпределяни в групи за хранене и третиране с фармакологичните антиепилептични средства. В хода на експериментите, с цел измерване на количеството употребявана ежедневно храна, част от животните за определени експерименти бяха отглеждани в самостоятелни касети. Под всяка фигура в раздел резултати е посочен броят на животните в група. Повечето експерименти са хронични-продължителност 1-2 месеца и това

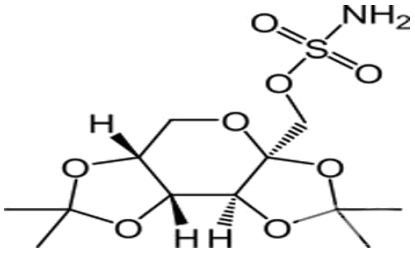
определяше спазване на всички условия за стандартно отглеждане на животните и елиминиране на стрес върху тях.

Изследванията върху бременни животни и тяхното потомство се проведоха в два етапа: **Първи етап:** Третиране на бременни плъхове, разпределени в групи по 3 бременни животни с три фармакологични средства, съответно: валпроева киселина (50 мг/кг т.м. i.p.); топирамат (100 мг/кг т.м. i.p.); карбамазепин (100мг/кг т.м. i.p.). Група бременни животни служеха за контрола, третирани с физиологичен разтвор 1 мл/кг т.м.)

Втори етап: Проучване на потомството на възраст 3 седмици. Определяни бяха следните показатели: телесна маса, глюкоза и липиди в кръв.

I. Фармакологични средства.

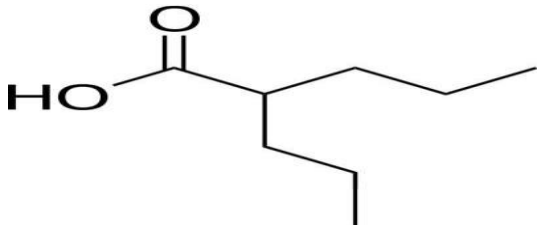
Дозите на фармакологичните средства са подбрани на база литературен анализ и опит на авторите с тях.



1. Топирамат – прилага се в доза от 100 мг / кг телесна маса на ден i.p. през цялата продължителност на експеримента - 8 седмици.



2.Карбамазепин – прилага се в доза от 100 мг/кг телесна маса i.p.



3. Валпроева киселина – прилага се в доза от 50 мг/кг телесно тегло, i.p.

II. Нефармакологични средства

1. Богата на мазнини храна –Експерименталното затлъстяване беше създадено по утвърден от нас метод (Т. Ханджиева – Дърленска и Н. Бояджиева 2010г.). Новост в настоящите експерименти е създаването на затлъстяване при полово незрели плъхове (след 25-ия ден от раждането), което се осъшествява чрез първоначално захранване на животните с богата на мазнини течна храна (смес от растителна и животинска мас) за период от 10 дни и последващото им отглеждане с богати на мазнини семки (слънчогледови и фъстъци). Това е модел на физиологично експериментално затлъстяване на полово незрели животни, базиран на природната особеност на гризачите да консумират в големи количества семки и фъстъци и затлъстяване без допълнителен стрес.

III. Методи и апаратура

Използвана апаратура: Donau Lab Sonic DLS 310T ултразвукова вана, Unipam 302 хомогенизатор, Zanezki K-24 Центрофуга, и Perkin-Elmer 552 UV-VIS спектрофотометър с 2 мл кварцови кювети, elisakit

1. Метод за определяне на протеини.

Концентрациите на протеина (мг/г) се определят спектрофотометрично. За целта се използва Биуретова проба. Това е фотоколориметричен метод за количествено определяне на белтъци в разтвор. Основава се на свойството на белтъците да образуват виолетовооцветен комплекс с медни йони в алкална среда. Определянето на концентрациите на протеин в изследвания разтвор се извършва по стандартна права.

2. Метод за определяне на свободни радикали в плазма

За оценка на радикалообразуването в плазма и тъкан беше използван MTT/формазанов тест. Той се базира на превръщането на жълтооцветения MTT във виолетово оцветен формазан под действие на образуващите се в плазмата свободни радикали. Колкото по-силно изразено е протичането на тази реакция, толкова по-голямо количество свободни радикали се образуват и остават несвързани от плазмените антиоксидантни системи.



3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
(MTT)

(*E*,*Z*)-5-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan
(Formazan)

Към проба, стандартизирана по протеиново съдържание се добавят 0,1 мг МТТ в концентрация 1мг/мл в PBS и 0,1 мл 0,3mM разтвор на ксантин. Пробите се инкубират в термостат при 37 градуса за 30 минути, след което се охлаждат до стайна температура. Абсорбцията на получения в резултат от взаимодействието формазан се измерва спектрофотометрично при 576 nm. Концентрацията му се определя в nmol/mg protein чрез използване на екстинкционен коефициент 13 nm/sm. Получените резултати се представят като проценти от контролната група.

3. ELISA методи за определяне на инсулин и лептин

Концентрациите на грелин, инсулин и лептин в плазма бяха определени чрез ELISA методи. Определянето се провеждаше съгласно инструкциите и протокола на производителя. Използвани бяха специфични за плъхове ELISA готови набори (китове). Бяха определени концентрации на инсулин и лептин серум на животните с помощта на ELISA готови набори за плъхове от фирмата BioVendor.

4. Метод за определяне на катехоламини в биологични среди

В края на всеки експеримент животните бяха декапитирани, бяха взети материали за биохимични, хормонални и имунологични изследвания (цял мозък, кръв и отделен серум). Изчисляване на концентрацията на медиаторите в тъканните проби е извършено чрез

използване на аналитичен метод за спектрофотометрично определяне на катехоламини след дериватизационна реакция. Методът е модифициран от Катедрата по фармацевтична химия и анализ при Фармацевтичен факултет за целите на настоящото изследване. Методът се базира на цветната реакция, която се осъществява при взаимодействието на адреналин и други катехоламини с железен трихлорид. При нея жълтият разтвор на железен трихлорид променя цвета си в зелен в присъствие на катехоламини. Полученият зелен продукт на реакцията се отчита с помощта на спектофотометър при 340 nm. Концентрацията на пробите се определя на база на стандартна калибрационна права. По-долу накратко представяме метода:

Подготовка на пробите за анализ: Мозъци от контролни и опитни животни се изследваха за съдържание на адреналин, серотонин и общо количество катехоламини. 1 гр тъкан се хомогенизира с 4 мл физиологичен разтвор за 10 мин. до получаване на хомогенат. Полученият хомогенат се разрежда до 10 мл и се центрофугира при 8000 об/мин за 20 мин. Супернатантата се събира и 1 мл от нея се преципитира с 9 мл к.HCl. Полученият разтвор се центрофугира за 15 мин при 8000 об/мин. Супернатантата се събира. 5 мл от него се обработва с 1 мл 3% разтвор на $FeCl_3$ съгласно указанията на метода. Абсорбцията на получените разтвори се измерва при 340 nm. Концентрацията на катехоламини в пробата се изчислява спрямо стандартната права. Приготвяне на разтвори за стандартната права: В мерителна колби от 100 мл се поставя предварително претеглено с аналитична точност количество от субстанция адреналин (Sigma, EU) както следва: 10, 5, 2.5, 125, 62.5, 31.25 мг. Приготвят се разтвори с помощта на 1 мл от всяка концентрация на

адреналин + 3 мл 3% $FeCL_3$ + дестилирана вода. Така се постигат 6 концентрации на работните разтвори, посочени по-долу.

1. 0,0001 g/ml
2. 0.00005 g/ml
3. 0.000025 g/ml
4. 0.0000125 g/ml
5. 0.00000625 g/ml
6. 0.000003125 g/ml

Приготвя се сравнителен разтвор (blanc). Абсорбцията на получените разтвори се измерва при 340 nm и резултатите се използва за построяване на калибрационна права, съгласно която се определят съдържанието на адреналин в мозъци на контролни и опитни плъхове.

5. Биохимични лабораторни методи за определяне на глюкоза и липди в кръв, вкл. провеждане на глюкозо-толерантен тест на гладно на плъхове (по опита на д-р Богданов и д-р Мемед в дисертационните им трудове).

6.Статистически анализ.

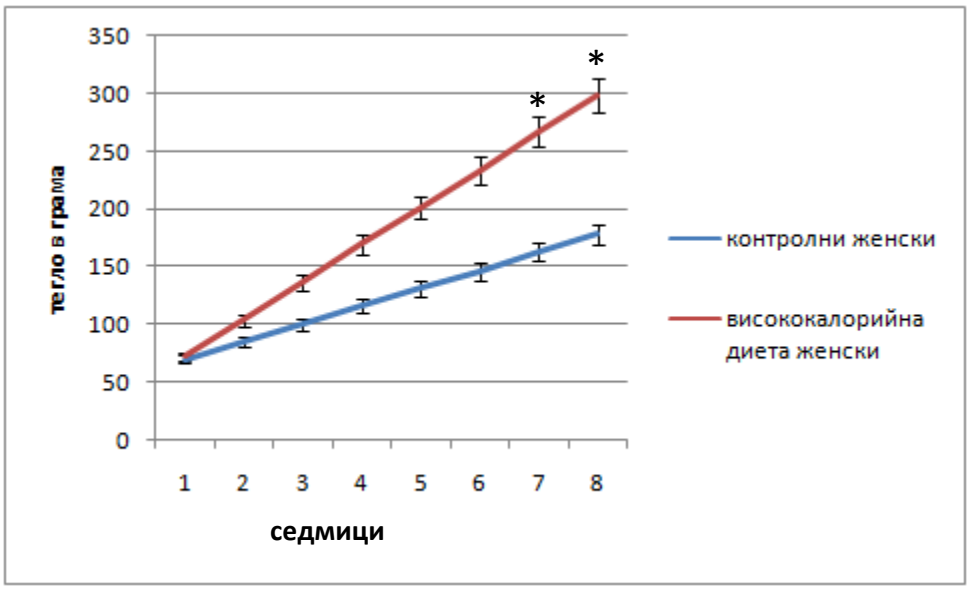
Използва се еднофакторен ANOVA анализ на данните. Стойност на $p < 0.05$ се счита за статистически значима.

ЧАСТ ТРЕТА: РЕЗУЛТАТИ ОТ ФАРМАКОЛОГИЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ

Получените експериментални резултати могат да се групират в раздели, както следва:

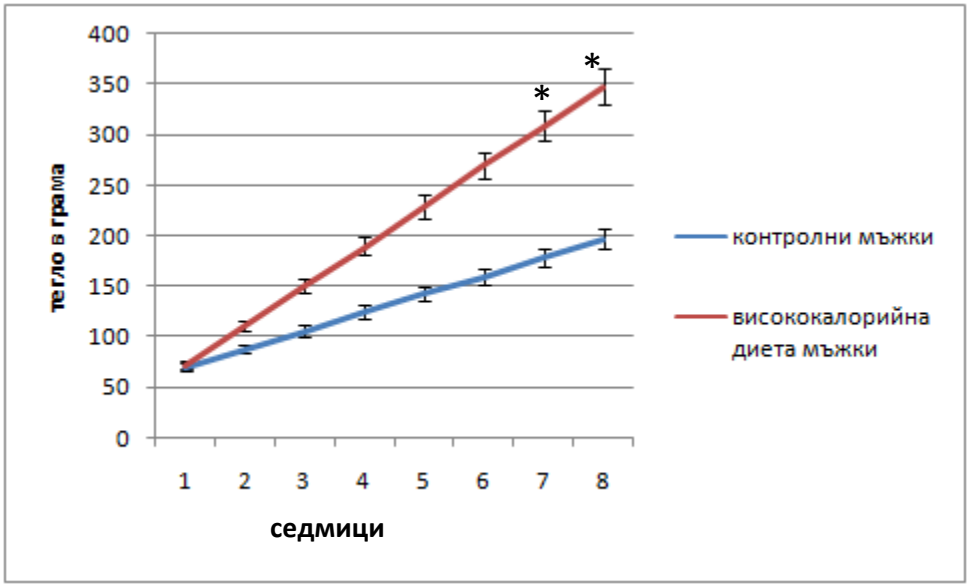
Раздел 1: Ефект на хранителния режим върху телесната маса и затлъстяването

През 8-седмичния период на хранене на плъховете с високо-калорийна диета се постигна развитие на затлъстяване при експерименталните животни. Теглото на захранваните с високо-калорийната диета животни се повиши статистически значимо ($p < 0.01$) в сравнение с контролните животни. Разликата между двете групи може да се види на фиг. 2 и 3:



Фиг. 2. Влияние на висококалорийната диета върху телесната маса при женски неполовозрели плъхове, които са приемали храна с високо съдържание на мазнини през целия период на експеримента от 8 седмици. В края на периода се отчита статистически значима промяна в теглото на

животните, които са захранвани с висококалорийна храна, сравнени с контролната група, която е приемала стандартна храна за гризачи. Брой на животни в група 6-8. * p<0,05



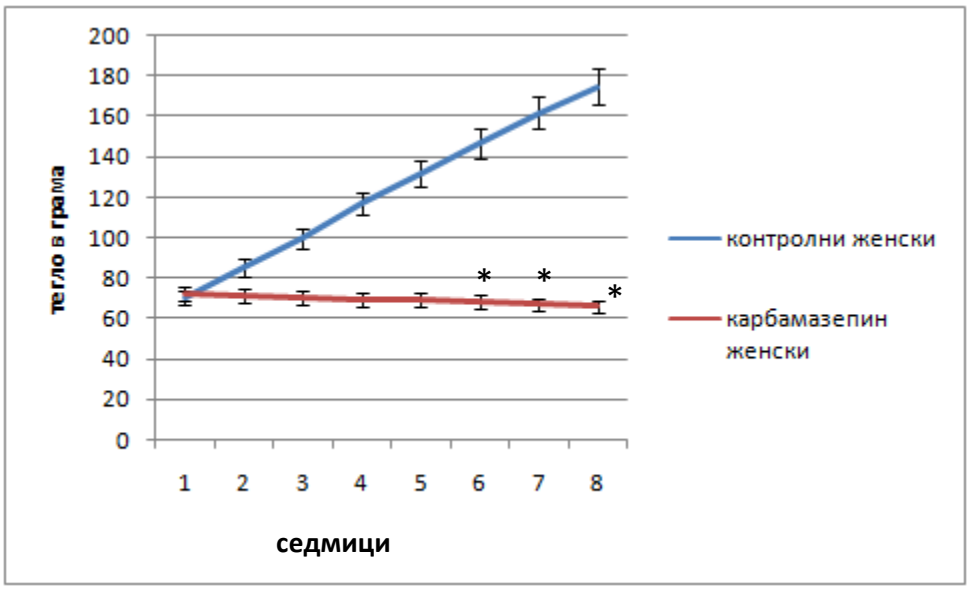
Фиг. 3. Влияние на 8 седмична висококалорийна диета върху телесна маса на мъжки неполовозрели плъхове. В края на периода се отчита статистически значима промяна в теглото на животните, които са захранвани с висококалорийна храна, сравнени с контролната група, която е приемала само стандартна храна за гризачи. Брой на животни в група 6-8. * p<0,05.

Резултатите, представени на фиг. 2 и 3 показват, че мъжките и женските животни, приемащи висококалорийната диета повишават значимо теглото си след 2-рата седмица от захранването. Високо-калорийната диета повишава значимо теглото на опитните животни, като това повишение става по-бързо към 4-5 седмица. Допускаме, че причината

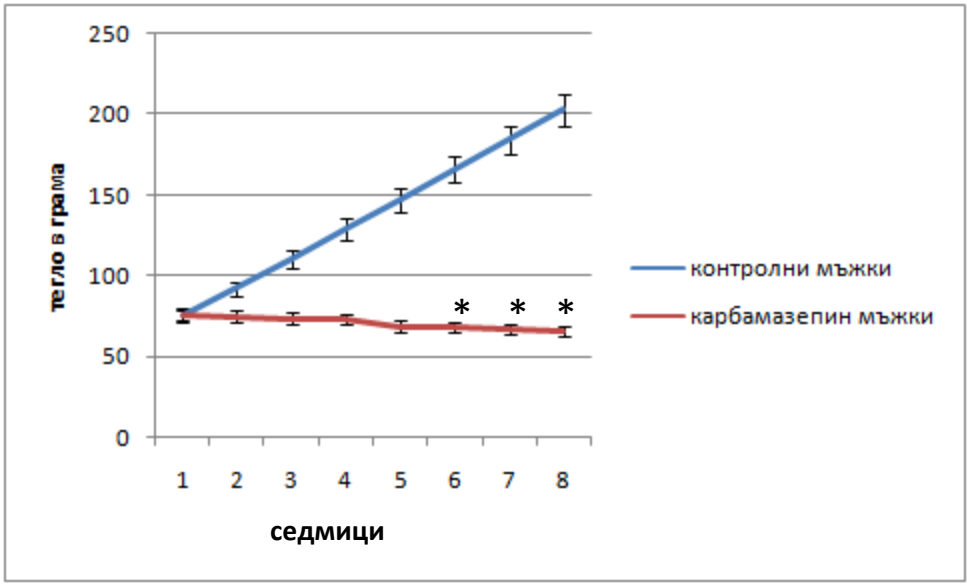
за по-ускореното повишаване на теглото след 4-та седмица на хранене с висококалорийна диета се дължи както на увеличаване на апетита с растежа на плъхчетата и навлизане в периода на тяхното полово развитие (пубертет), адаптация към мастната диета и самостоятелно хранене след отделяне от майките, така и на по-ускорено натрупването на висцерална мастна тъкан.

Раздел 2: Ефекти на карбамазепин върху тегло на мъжки и женски плъхове

На фиг. 4, 5, 6 и 7 са представени резултатите от експериментите с карбамазепин върху мъжки и женски полово зрели животни.



Фиг. 4. Влияние на карбамазепин (100 mg/kg т.м. i.p.) върху телесната маса при **незахранвани** с висококалорийна храна неполовозрели женски плъхове – отчита се понижение в телесната маса на третираните с карбамазепин животни, спрямо контролната група. Брой на животни в група 6-8. * $p<0,05$



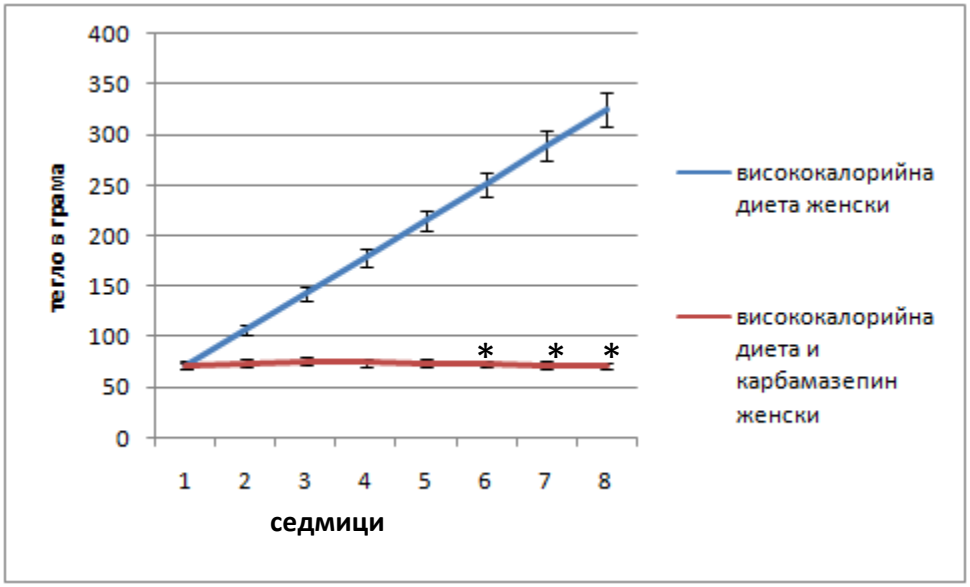
Фиг. 5. Влияние на карбамазепин (100 mg/kg т.м. i.p.) върху телесната маса при незахранвани с висококалорийна храна неполовозрели мъжки плъхове – отчита се понижение в телесната маса на третираните с карбамазепин животни, което е статистически значимо спрямо контролната група. Брой на животни в група 6-8. *p<0,05.

Приемът на карбамазепин значимо понижава теглото на животните от двата пола. При ежедневното наблюдение на животните отчитахме тенденция към намален прием на храна при тези, третирани с карбамазепин в сравнение с контролните животни. Посоченото дава основание да допуснем намален апетит на животните под влияние на карбамазепин.

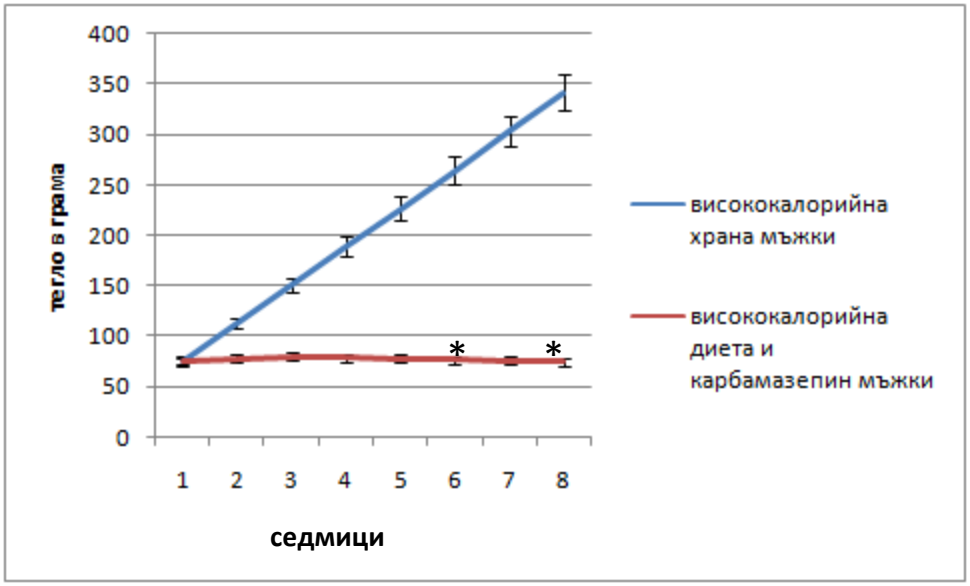
Резултатите с карбамазепин върху експериментални животни със затлъстяване са представени на фиг. 6 и 7 (за двата пола плъхове).

Още по-отчетлив е резултата от ефекта на карбамазепин върху телесното тегло и апетита при захранваните с висококалорийна храна

животни. Статистически значими са разликите в теглото между захранваните допълнително с мастна диета плъхове в сравнение с контролните животни и за двата пола.



Фиг. 6. Влияние на карбамазепин (100 mg/kg т.м. i.p) върху телесната маса на неполовозрели женски животни, които са захранвани с висококалорийна храна за 8 седмици. Отчита се статистически значимо понижение в телесната маса на третираните с карбамазепин плъхове спрямо контролните животните, които са захранвани с висококалорийна храна, но без карбамазепин. Брой на животни в група 6-8. *$p<0.05$.



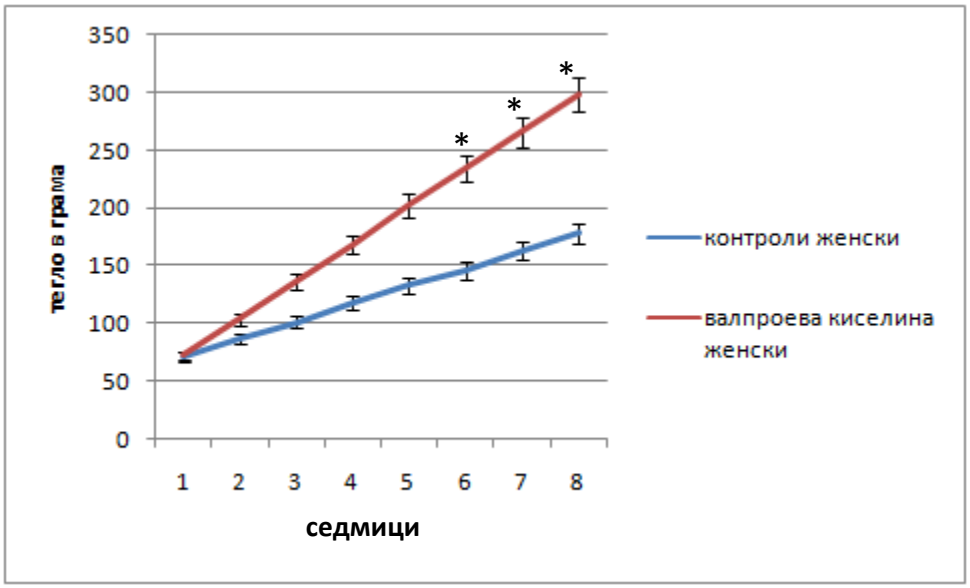
Фиг. 7. Влияние на карбамазепин (100 mg/kg т.м. i.p) върху телесната маса на мъжки неполовозрели животни, които са захранвани с висококалорийна храна през целия период на третиране от 8 седмици. Отчита се статистически значимо понижение в телесната маса на третираните с карбамазепин в сравнение с животните, които са захранвани с висококалорийна храна, но без карбамазепин. Брой на животни в група 6-8. *$p<0.05$.

Продължителното третиране с карбамазепин на мъжки и женски млади плъхове (след 25-ия ден от раждането) понижава тяхното тегло. Анализът на резултатите показва, че няма разлики в ефекта на карбамазепин върху теглото между двата пола животни. Допускаме, че продължителното въвеждане на карбамазепин води до потискане на апетита на животните и намаляване на теглото им в периода на растеж. По-отчетлив е резултатът с карбамазепин при групите животни, приемали висококалорийна храна.

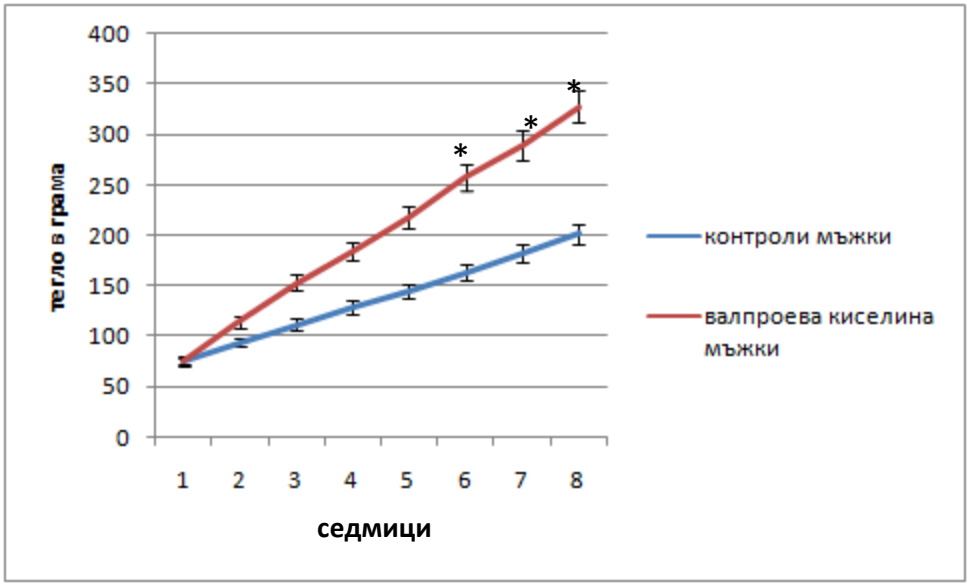
Заключения: 1. Карбамазепин понижава теглото на мъжки и женски животни в хода на растежа. 2. Карбамазепин понижава степента на затлъстяване на неполовозрели мъжки и женски плъхчета при хранене с висококалорийна (богата на мазнини) диета.

Раздел 3: Ефекти на валпроева киселина върху тегло на мъжки и женски плъхове

Резултати от проучване на валпроева киселина са представени на фигури 8, 9, 10 и 11.

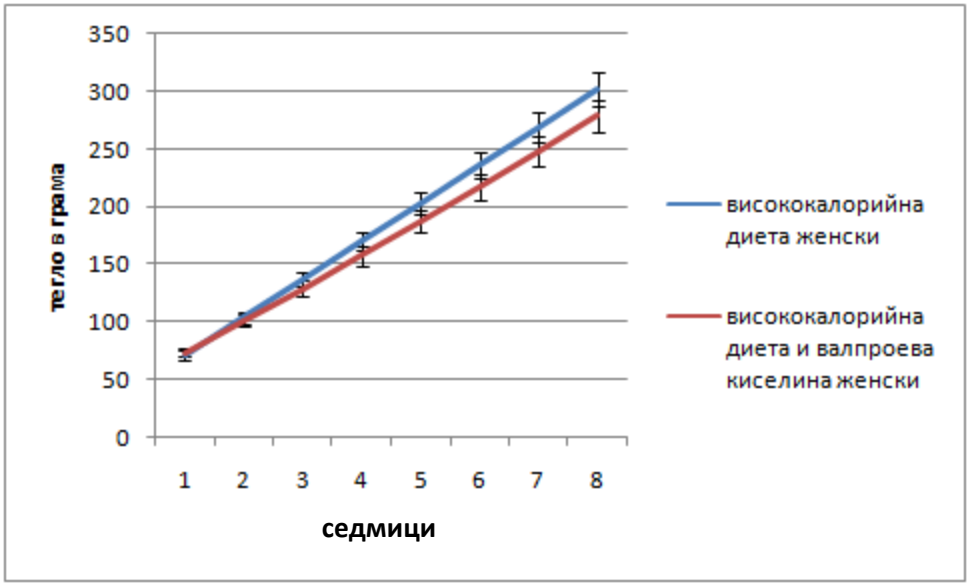


Фиг. 8. Влияние на валпроева киселина (50 mg/kg т.м. i.p.) върху телесната маса на **незахранвани** с висококалорийна храна неполовозрели **мъжки** плъхове – отчита се повишаване на телесната маса на третираните с валпроева киселина животни, спрямо контролната група. Брой на животни в група 6-8. * $p<0,05$.

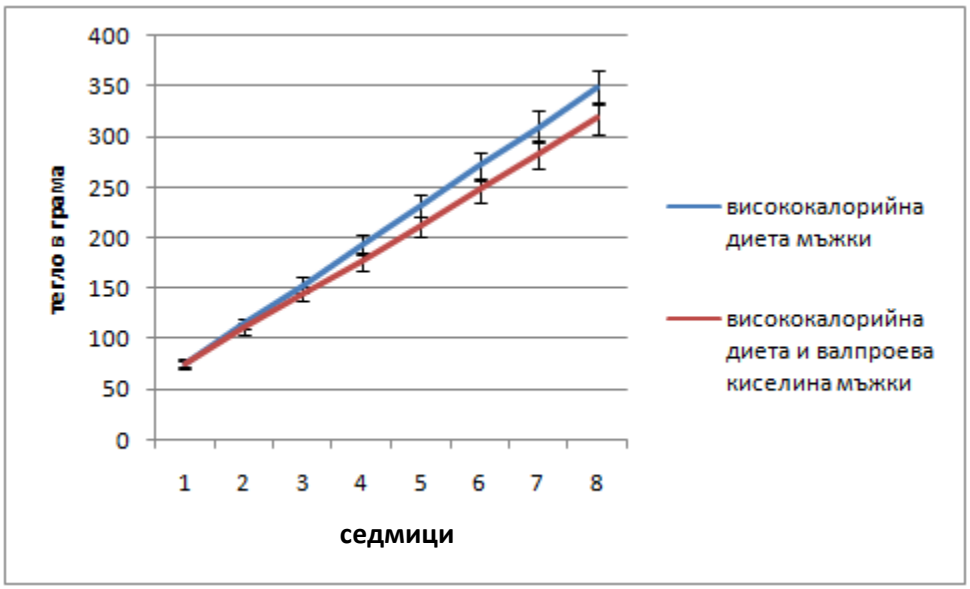


Фиг. 9. Влияние на валпроева киселина (50 mg/kg т.м. i.p.) върху телесната маса при **незахранвани** с висококалорийна храна неполовозрели **женски** плъхове – отчита се повишаване на телесната маса на третираните с валпроева киселина животни, спрямо контролната група. Брой на животни в група 6-8. *p<0,05

Продължителното третиране на мъжки и женски животни с валпроева киселина предизвиква повишаване на теглото им, което е статистически значимо в сравнение с животните от контролната група.. Допуска се увеличаване на апетита и потребностите от храна на животните под влияние на многократно третиране с валпроева киселина.



Фиг. 10. Влияние на валпроева киселина (50 мг/кг т.м. i.p) върху телесната маса на **женски** неполовозрели животни, които са захранвани с **висококалорийна храна** през целия период на третиране от 8 седмици. Брой животни в група 6-8.



Фиг. 11. Влияние на валпроева киселина (50 mg/kg т.м. i.p) върху телесната маса на **мъжки** неполовозрели животни, които са захранвани с

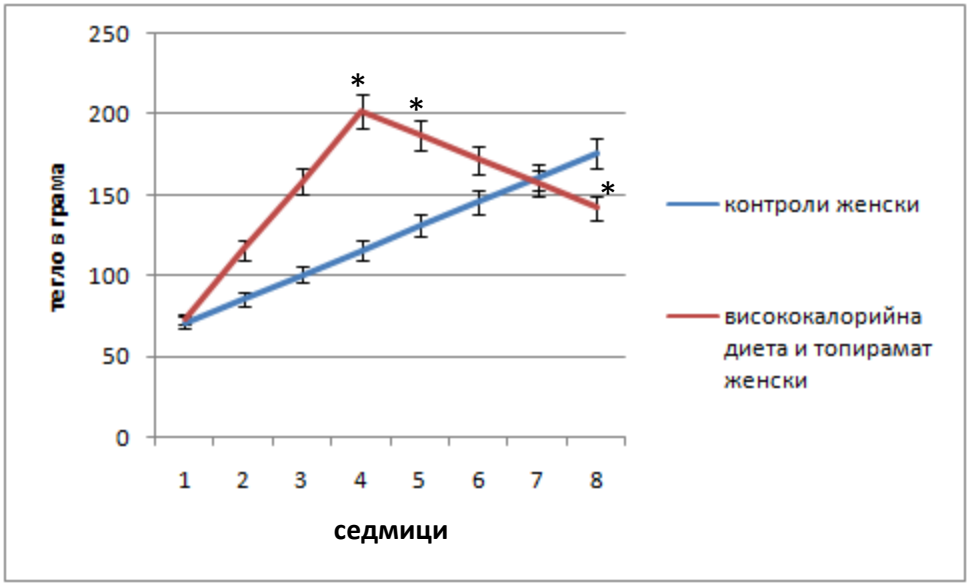
висококалорийна храна през целия период на третиране от 8 седмици. Брой животни в група 6-8.

Хроничното третиране с валпроева киселина **не повишава теглото** на мъжки и женски плъхове в периода на растеж, които допълнително са захранвани с висококалорийна храна.

Заключения: 1. Многократното третиране с валпроева киселина на мъжки и женски плъхове без висококалорийна диета в период на растеж увеличава теглото им, което е статистически значимо в сравнение с контролните животни. 2. Валпроева киселина не предизвиква потенциране на ефекта на висококалорийната диета (с мас) върху теглото на мъжки и женски животни в периода на техния растеж (няма различия в теглото между опитни и контролни плъхове).

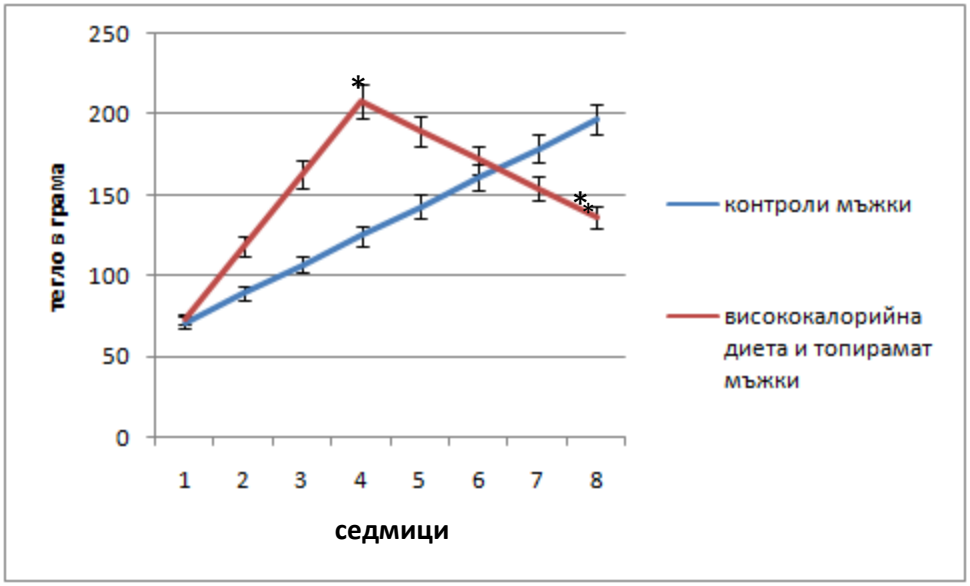
Раздел 4: Ефекти на топирамат върху тегло на мъжки и женски плъхове

Резултати от проучванията с топирамат са представени на фигури 12 и 13. Тези експерименти се различават от посочените по-горе. При тях животните (мъжки и женски неполовозрели плъхчета) са подложени на диета за затлъстяване (храна, богата на мазнини) за 4 седмици и експериментът е продължил с въвеждането на топирамат за 4 седмици.



Фиг. 12. Влияние на топирамат в доза 100mg/kg т.м. i.p. върху телесната маса на женски животни, със затлъстяване. Отчита се статистически значимо понижение на теглото на животните със затлъстяване и третирани с топирамат в сравнение с контролната група. Брой на животни в група 6-8.*$p<0,05$

Включването на топирамат след захранване с висококалорийна храна спира повишаването на телесната маса. Рано, още след първата седмица на третиране с топирамат се отчита намаляване на теглото на животните, което продължава до края на 8-та седмица на експериментите.



Фиг. 13. Влияние на топирамат в доза 100mg/kg т.м. i.p. върху телесната маса на мъжки животни, третирани с фармакологичното средство за 4 седмичен период след първоначално захранване с висококалорийна храна за 4 седмици. Отчита се значимо понижение на теглото на затлъстелите животни, като в края на периода на експеримента теглото спада до стойности по-ниски от тези на контролната група, която е получавала само лабораторна храна за плъхове. Брой на животни в група 6-8. *$p<0,05$

При мъжки животни включването на топирамат след 4-та седмица на захранване спира повишаването на телесната маса подобно на експеримента с женските плъхове. Още с първите приеми на топирамат теглото на животните започва да спада. Понижаване на теглото се наблюдава още на първата седмица. Този ефект се засилва с времето и теглото и се понижава и достига стойности под нормалните за контролни животни.

Заключение: Продължителното ежедневно въвеждане на топирамат на мъжки и женски животни със създаден модел на затлъстяване намалява теглото, което е по-значимо проявено при мъжките плъхове. Допускаме роля на половите хормони в по-изразения ефект на топирамат при мъжките плъхове.

Раздел 5: Проучване влиянието на висококалорийна диета върху катехоламини в мозък на мъжки и женски плъхове

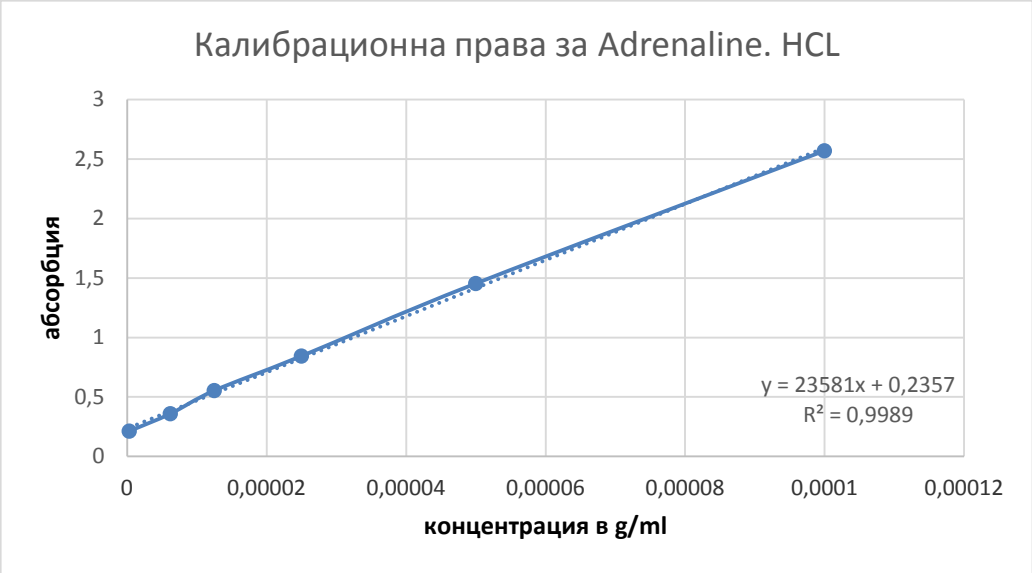
Резултатите от проучванията с карбамазепин, валпроева киселина и топирамат показаха ефекти на трите фармакологични средства върху теглото и степента на затлъстяване в период на растеж на животните. Отчитайки теглото и храната, която животните консумираха ежедневно, както и механизмите на действие на тези фармакологични средства, може да се допусне, че ефектите им са централни. Анализът в литературата показва роля на катехоламини в мозъка в регулиране на апетит и метаболизъм и малко експериментални изследвания за влиянието на посочените антиепилептични средства върху адреналин на мозък на неполовозрели плъхове. Първа задача на това проучване бе анализът на адреналин.

Резултати от анализ на адреналин:

Приготвените предварително разтвори на адреналин с точни концентрации се спектрофотометрират при 340 nm дължина на вълната. Получените стойности са представени в следната таблица:

Концентрация	Абсорбция
0,0001	2,5688
0,00005	1,4663
0,000025	0,96513
0,0000125	0,5532
0,00000625	0,31644
0,000003125	0,1652

От така получените експериментални стойности беше построена калибрационна права:



Фиг. 14. Калибрационна права за адреналин е построена на база данните, получени при количествено определяне на адреналин чрез фотоколориметрия на разтвор след проведена дериватизационна реакция с $FeCL_3$ – корелационния коефициент е 0,9989.

Както се вижда от правата получените стойности много добре са представени с корелационен коефициент R=0,9989. Това показва много добро съвпадение на експерименталните стойности с теоретично очаквания ход на правата. Така получената калибрационна права беше използвана за изчисляване на концентрациите на медиаторите в мозъка на експерименталните животни

При спектрофотометричното определяне на приготвените проби от експерименталните животни се получиха резултати, които са обобщени в следните таблици 1 и 2:

A-Carb	K-Carb	A-Valp	K-Valp	A-Top	K-Top
0,708677	0,0497	0,657146	0,0443	0,733488	0,0523
0,709631	0,0498	0,647603	0,0433	0,733488	0,0523
0,710586	0,0499	0,658100	0,0444	0,734443	0,0524
0,709631	0,0498	0,658100	0,0444	0,734443	0,0524
0,710586	0,0499	0,657146	0,0443	0,734443	0,0524
0,710586	0,0499	0,647603	0,0433	0,733488	0,0523

Табл. 1. Концентрация (К) на адреналин в мозък на мъжки неполовозрели плъхове, третирани с изследваните фармакологични средства – карбамазепин, валпроева киселина и топирамат и на нормална лабораторна храна (Carb – карбамазепин;Valp- валпроева киселина; Top-топирамат). А-абсорбция. Брой на животни в група = 6.

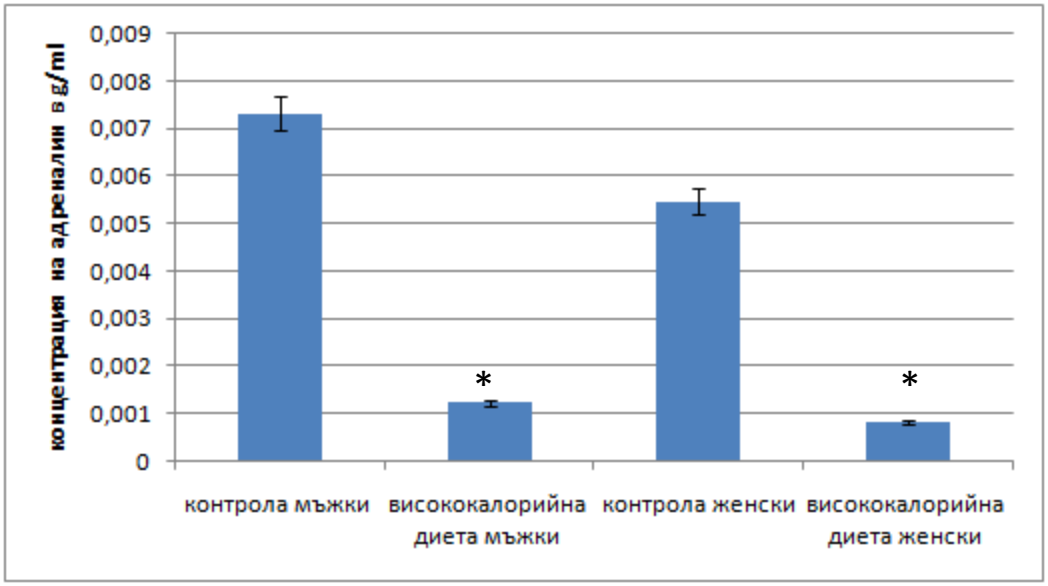
A-Carb	K-Carb	A-Valp	K-Valp	A-Top	K-Top
0,605615	0,0389	0,234408	0,0361	0,701997	0,049
0,603706	0,0387	0,584621	0,0367	0,692454	0,048

0,603706	0,0387	0,578895	0,0361	0,693409	0,0481
0,604661	0,0388	0,585575	0,0368	0,693409	0,0481
0,604661	0,0388	0,580804	0,0363	0,694363	0,0482
0,605615	0,0389	0,584621	0,0367	0,693409	0,0481

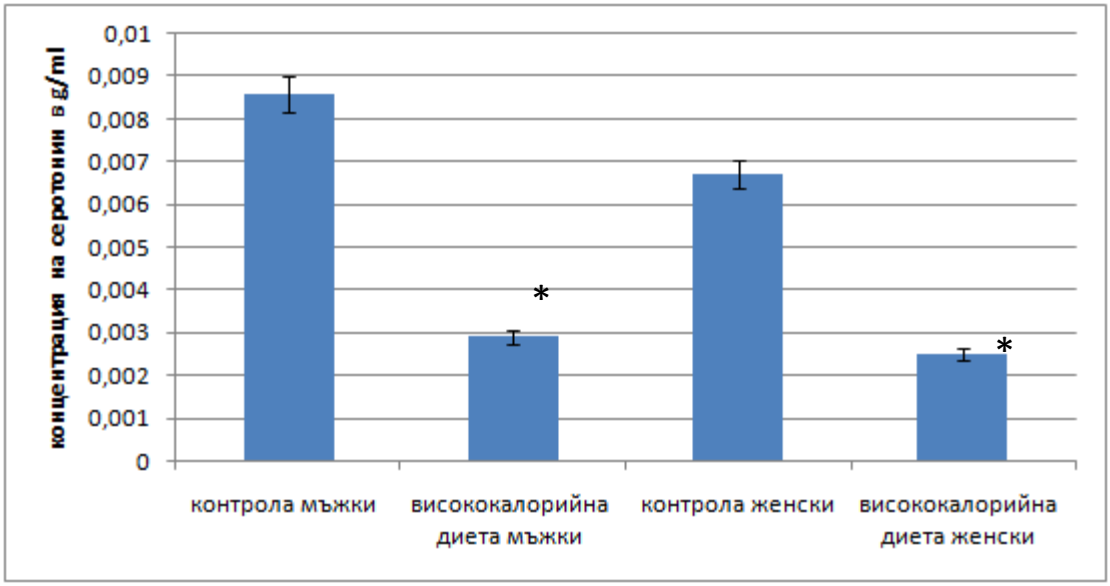
Табл. 2. Концентрация (К) на адреналин в мозък на женски неполовозрели плъхове, третирани с изследваните фармакологични средства – карбамазепин, валпроева киселина и топирамат и на нормална лабораторна храна (Carb – карбамазепин;Valp- валпроева киселина; Top-топирамат). А-абсорбция. Брой на животни в група = 6.

В посочените таблици са отбелязани стойностите на адсорбцията и изчислените на база концентрации на адреналин в пробите.

На фиг. 15 и 16 са представени резултатите от сравнителните изследвания на мозъчна концентрация на адреналин и серотонин при мъжки и женски животни. За първи път се установява промяна в катехоламини на мозък на плъх след продължително хранене с висококалорийна диета в период на растеж на плъхчета. Няма разлика в резултатите между мъжки и женски животни.



Фиг. 15. Влияние на 8-седмична висококалорийна мастна диета върху нивата на адреналин в мозък на неполовозрели мъжки и женски плъхове. Отчетени са понижени концентрации на адреналин в мозъка на животните, получаващи висококалорийна храна, спрямо контролната група, която е захранвана с нормална лабораторна храна и при двата пола. Брой животни в група – 6-8. *$p<0,05$ при сравняване със съответната по пол контролна група.

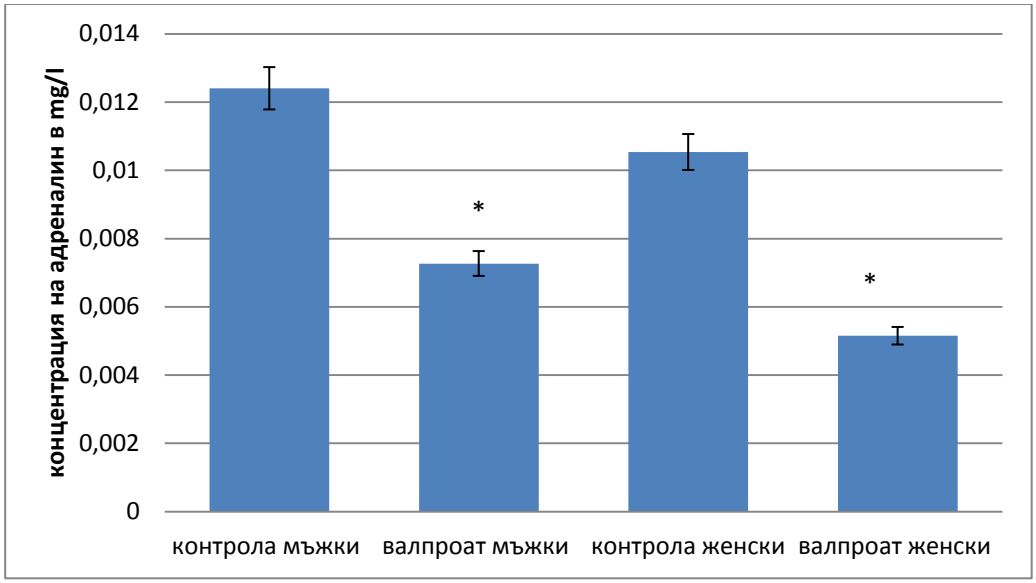


Фиг. 16. Влияние на 8-седмична хипокалорийна диета върху концентрациите на серотонин в мозък на мъжки и женски неполовозрели плъхове. Отчита се понижаване в концентрацията на серотонин в мозък на захранваните с хипокалорийна храна плъхове и при двата пола в сравнение с контролните групи, които са захранвани с нормална лабораторна храна. Брой животни в група 6-8. * $p<0,05$ при сравняване със съответната по пол контролна група.

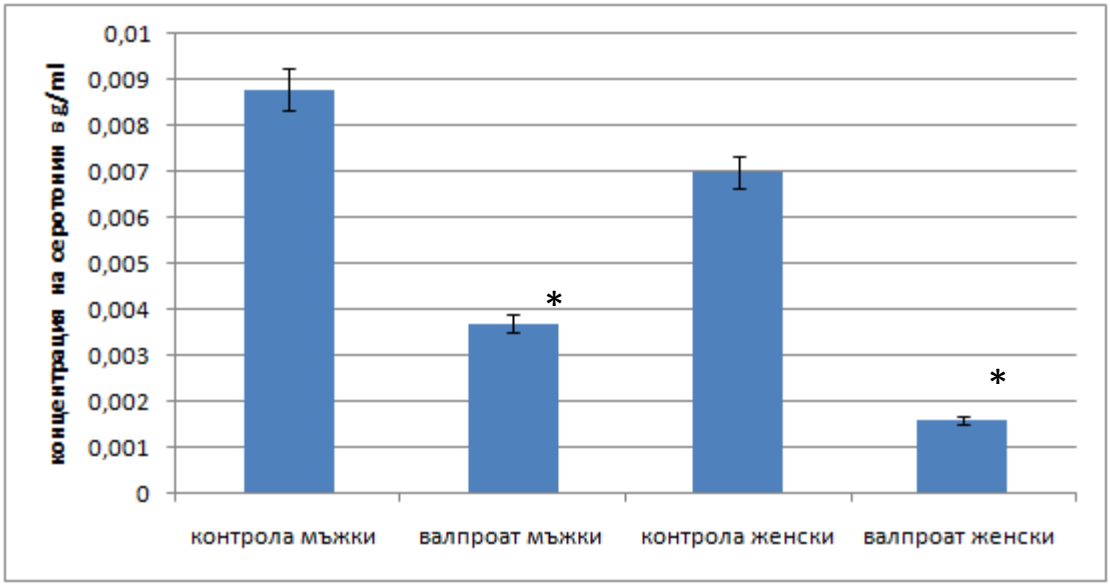
Раздел 6: Проучване влиянието на валпроева киселина върху катехоламини в мозък на мъжки и женски плъхове

След установяване ефекта на хипокалорийната мастна диета върху адреналин и серотонин в мозък на плъхчета в период на растеж, експериментите продължиха с определяне на ефектите на проучваните антиепилептични фармакологични средства върху катехоламини в мозък. При първата серия от експерименти бе проучено влиянието на валпроева киселина върхи мозъчни концентрации на адреналин при неполовозрели

мъжки и женски плъхчета отглеждани в условия на „нормална” храна за тези животни (без натоварване с мастна диета). На фиг. 17 и 18 са представени резултатите от тези изследвания.



Фиг. 17. Влияние на валпроева киселина върху нивата на адреналин в мозък на мъжки и женски неполовозрели плъхове след 8-седмично третиране с фармакологичното средство в доза 50 mg/kg т.м. i.p. Отчитат се понижени концентрации на невромедиатора в мозък на животните, третирани с валпроева киселина, спрямо контролната група. Брой животни в групата 6-8. *$p<0,05$ при сравняване със съответната по пол контролна група.

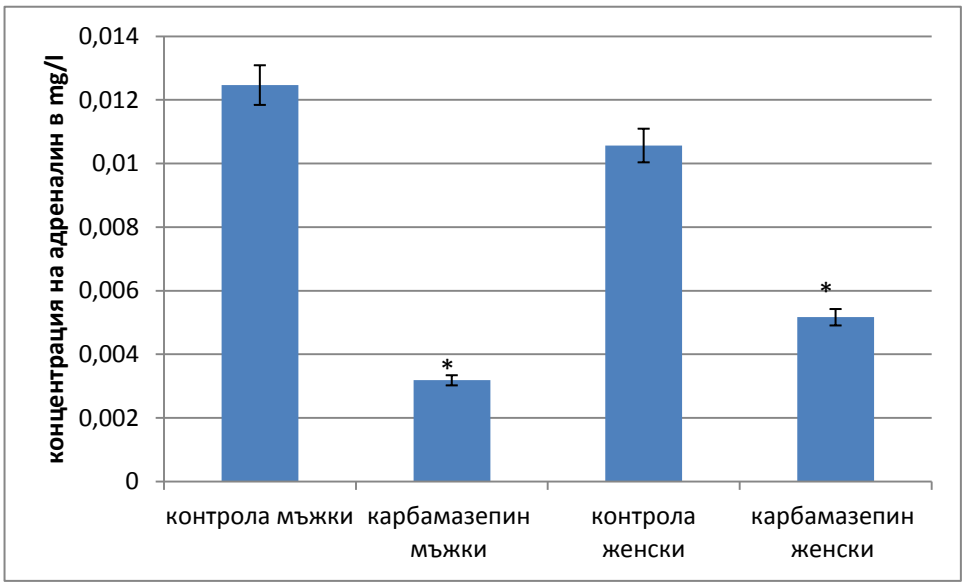


Фиг. 18. Влияние на валпроева киселина върху нивата на серотонин в мозък на мъжки и женски неполовозрели плъхове след 8-седмично третиране с фармакологичното средство в доза 50 mg/kg т.м. i.p. Отчитат се понижени концентрации на серотонин в мозък на животните, третирани с валпроева киселина. Брой животни в групата 6-8. *$p<0,05$ при сравняване със съответната по пол контролна група.

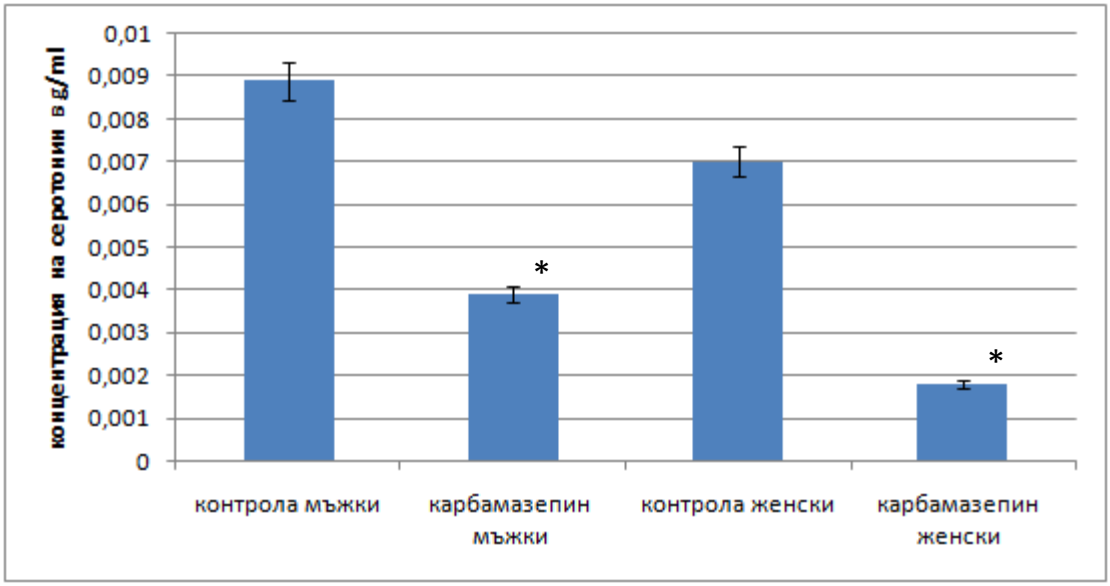
Заключение: Приложението на валпроева киселина понижава концентрациите на катехоламините в мозък на плъхчета. Допускаме, че наблюдаваните промени в концентрациите на катехоламините имат роля за промените в хранителното поведение на животните и метаболитни нарушения в процеса на растеж на животните.

Раздел 7: Влияние на карбамазепин върху катехоламини (адреналин и серотонин) в мозък на мъжки и женски плъхове

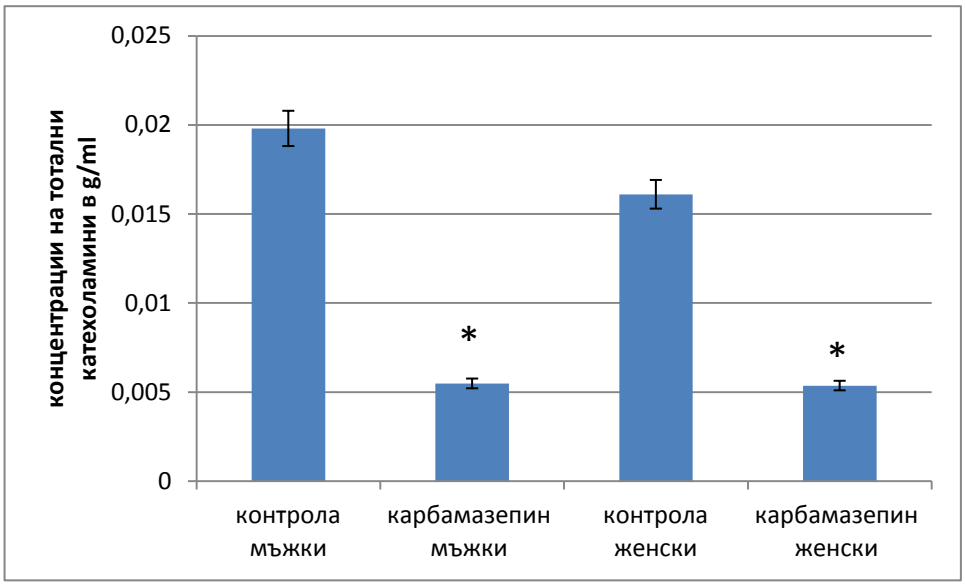
На фиг. 19, 20 и 21 са представени резултатите от изследванията с карбамазепин. Статистически значимо е понижаването на концентрациите на катехоламини в мозък на мъжки и на женски животни след продължително третиране с карбамазепин в период на израстване на животните**.**



Фиг. 19. Влияние на карбамазепин върху нивата на адреналин в мозък на мъжки и женски неполовозрели плъхове след 8-седмично третиране с фармакологичното средство в доза 100 mg/kg т.м. i.p. Отчитат се понижени концентрации на адреналин в мозък на животните, третирани с карбамазепин, спрямо контролната група. Брой животни в групата 6-8. *$p<0,05$ при сравняване със съответната по пол контролна група.



Фиг. 20. Влияние на карбамазепин върху нивата на серотонин в мозък на мъжки и женски неполовозрели плъхове след 8-седмично третиране с фармакологичното средство в доза 100 mg/kg т.м. i.p. Отчитат се понижени концентрации на серотонин в мозъка на животните, третирани с карбамазепин, статистически значими спрямо съответната контролна група. Брой на животни в групата е 6-8. * $p<0,05$ при сравняване със съответната по пол контролна група.

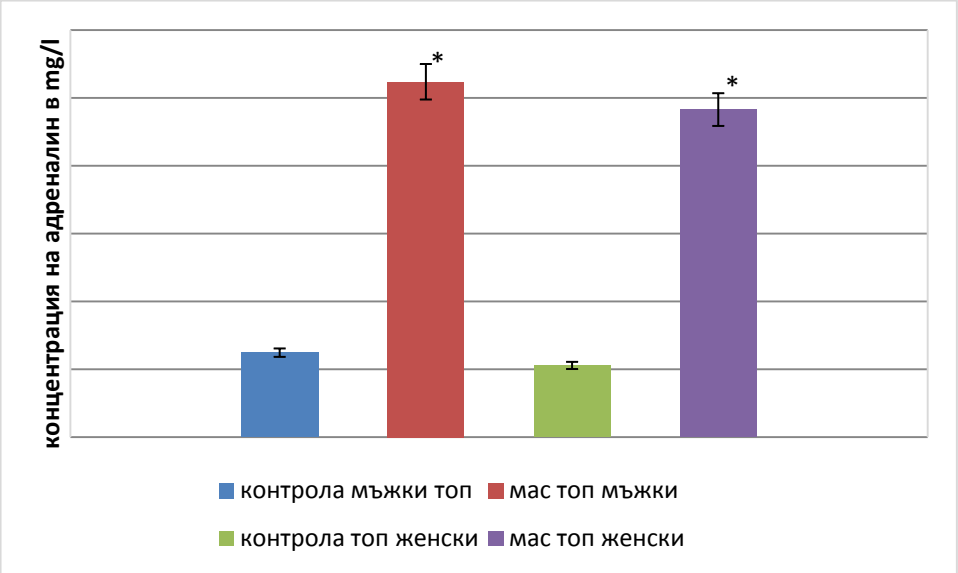


Фиг. 21. Влияние на карбамазепин върху нивата на тотални катехоламини в мозък на мъжки и женски неполовозрели плъхове след 8-седмично третиране с фармакологичното средство в доза 100 mg/kg т.м. i.p. Отчитат се понижени концентрации на тоталните катехоламини в мозък на животните, третирани с карбамазепин, статистически значими спрямо контролната група. Брой на животни в групата е 6-8. * $p<0,05$.

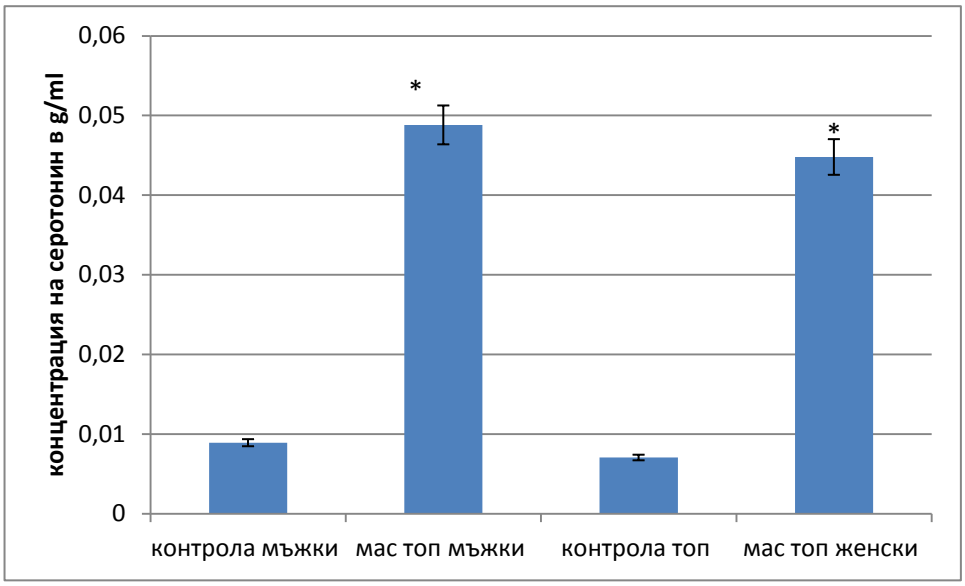
Заключение: Подобно на валпроева киселина, и карбамазепин понижава нивата на катехоламини в мозъка на изследваните животни. Ефектът на карбамазепин при мъжките плъхове е по-силно изразен от този при женските. Сравнителният анализ показва, че понижението на концентрацията на медиаторите е по-силно изразено при третираните с карбамазепин животните в сравнение с групите, получавали валпроева киселина. Допускаме, че при групите получавали антиепилептичните фармакологични средства, промените в концентрациите на медиаторите имат роля и за промените в телесното тегло.

Раздел 8: Влияние на топирамат върху катехоламини (адреналиин, серотонин и общи) в мозък на мъжки и женски плъхове

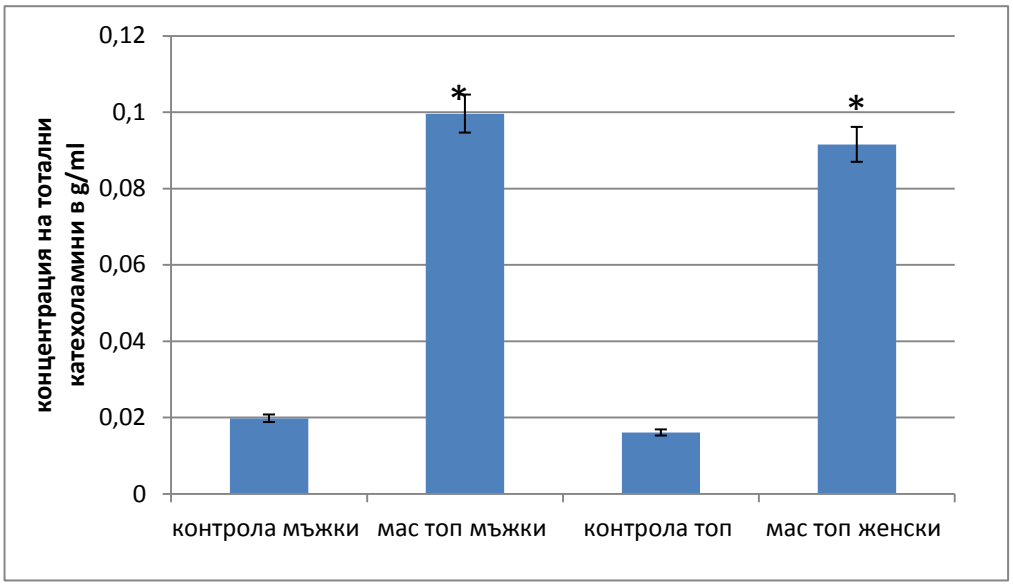
Резултатите от опитите с топирамат са представени на фиг. 22, 23 и 24. При тези експерименти, неполовозрелите животни първо са захранвани с богата на мазнини диета (създаден е модел на затлъстяване) и после са третирани ежедневно с топирамат в продължение на 4 седмици. Взет е мозък от плъховете и са определяни адреналин, серотонин и общи (тотални) катехоламини.



Фиг. 22. Влияние на топирамат върху нивата на адреналин в мозък на мъжки и женски плъхове (с или без затлъстяване) след 4-седмично третиране с фармакологичното средство в доза 100 mg/kg т.м. i.p. Отчитат се значимо повишени концентрации на адреналина в мозъка на животните, третирани с топирамат, които са статистически значими спрямо съответните контролни групи. Брой на животни в групата е 6-8. * $p<0,05$ при сравняване със съответната по пол контролна група.



Фиг. 23. Влияние на топирамат (топ) върху нивата на серотонин в мозък на мъжки и женски неполовозрели плъхове след 4-седмично третиране с фармакологичното средство в доза 100 mg/kg т.м. i.p. Отчитат се повишени концентрации на адреналин в мозък на животните, третирани с топирамат, което е статистически значимо спрямо контролната група. Брой на животни в група е 6-8. * $p<0,05$ спрямо съответната контролна група.

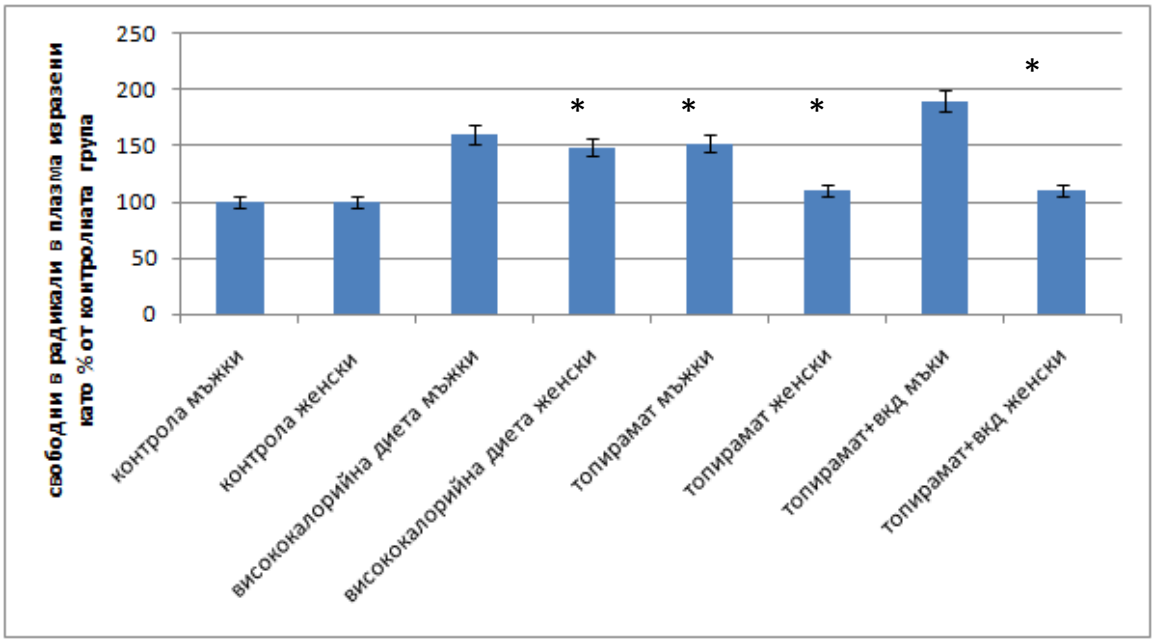


Фиг. 24. Влияние на топирамат върху нивата на тотални катехоламини в мозък на мъжки и женски неполовозрели плъхове след 4-седмично третиране с фармакологичното средство в доза 100 mg/kg т.м. i.p. Отчитат се значимо повишени концентрации на тоталните катехоламини в мозък на животните, третирани с топирамат , спрямо контролната група. Брой на животни в група е 6-8. * $p<0,05$.

Заключение: Топирамат повишава статистически значимо концентрациите на катехоламини в мозък на плъхове. Този ефект е по-изразен при пониженитe в резултат на висококалорийната диета нива на изследваните медиатори в мозък на плъхове. Промените в мозъчни катехоламини имат роля в промените в телесното тегло на животните, което под влияние на топирамат се понижава.

Раздел 9: Влияние на топирамат върху свободни радикали в кръв на мъжки и женски плъхове с или без висококалорийна диета

Ролята на свободните радикали в механизмите, регулиращи апетит и метаболизъм се дискутира в литературата. В допълнение, макар и оскъдни, има данни, че някой антиепилептични лекарства има влияние върху механизми на оксидативен стрес.



Фиг. 25. Влияние на топирамат върху количеството на свободни радикали при женски и мъжки неполовозрели животни, които са с или без висококалорийна диета (вкд) по време на растежа. *p<0.05

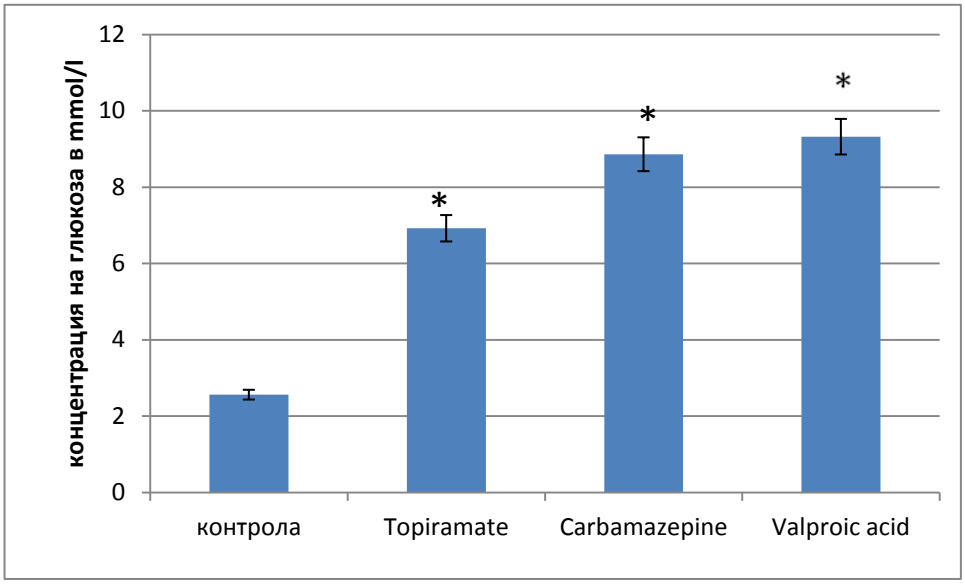
Заключения от анализа на резултатите от фиг. 25: 1. Няма статистически значими различия в концентрациите на свободни радикали в кръв между мъжки и женски животни без висококалорийна диета; 2. Храненето с богата на мазнини диета (вкд в легендата на фигурата)

увеличава концентрацията на свободни радикали в кръв както на мъжки, така и на женски плъхове. По-проявен е ефекта върху женските плъхове; 3. Топирамат увеличава концентрацията на свободни радикали в кръв на женски плъхове, които са без висококалорийна мастна диета, което е статистически значимо спрямо контролната група (виж първи стълб на фигурата); 4. Топирамат не променя концентрацията на свободни радикали в кръв на мъжки плъхове, отглеждани в условия на без висококалорийно хранене. 5. Топирамат статистически значимо ($p<0.001$) увеличава концентрацията на свободни радикали в кръв на женски животни и не променя тази при мъжки животни, които са отглеждани на висококалорийна мастна диета.

Дискусия към раздел 9: При проведените изследвания за радикалообразуване в кръв на лабораторни животни с или без експериментален модел на затлъстяване се установи, че висококалорийната мастна диета повишава значимо радикалообразуването в кръвната плазма на изследваните животни. Тези резултати са нови за млади животни (неполовозрели плъхчета). Този ефект е по-значим при женските в сравнение с мъжките животни. Топирамат не понижава радикалообразуването, а напротив има про-оксидантен ефект. Този факт се съобщава за първи път в литературата. Про-оксидативното действие се проявява по-силно, когато веществото се прилага след висококалорийната диета при женски животни. Механизмите на действие върху радикалообразуването са бъдеща задача на изследванията. Може да се допусне увеличено образуване на свободни радикали при рязко намаляване на теглото, въпреки че няма убедителни факти в литературата.

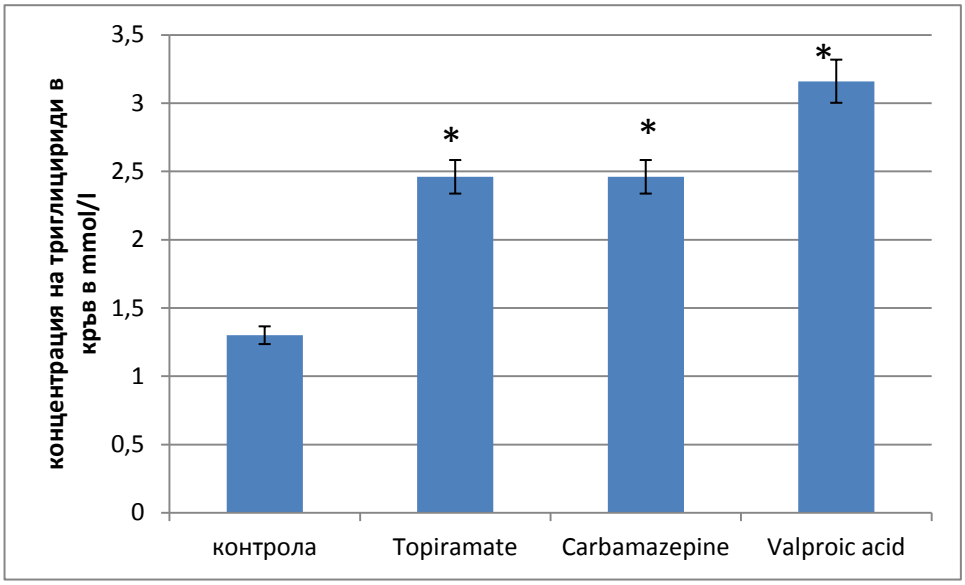
Раздел 10: Сравнителни проучвания на валпроева киселина, карбамазепин и топирамат върху показатели на въглехидратна и мастна обмяна на възрастни мъжки плъхове

В литературния анализ е посочено значението на проучванията на влиянието на антиепилептични средства върху метаболизъм на хора. Оскъдни са данните за изследвания върху метаболизма на деца в периода на растежа. Оскъдни до липсващи са и резултати от изследвания в посоченото направление върху плъхове. Опитите бяха проведени върху мъжки плъхове след продължително третиране (4 седмици) с валпроева киселина, топирамат или карбамазепин. Определяни бяха показатели на мастна и въглехидратна обмяна – серумни нива на глюкоза, триглицериди и холестерол



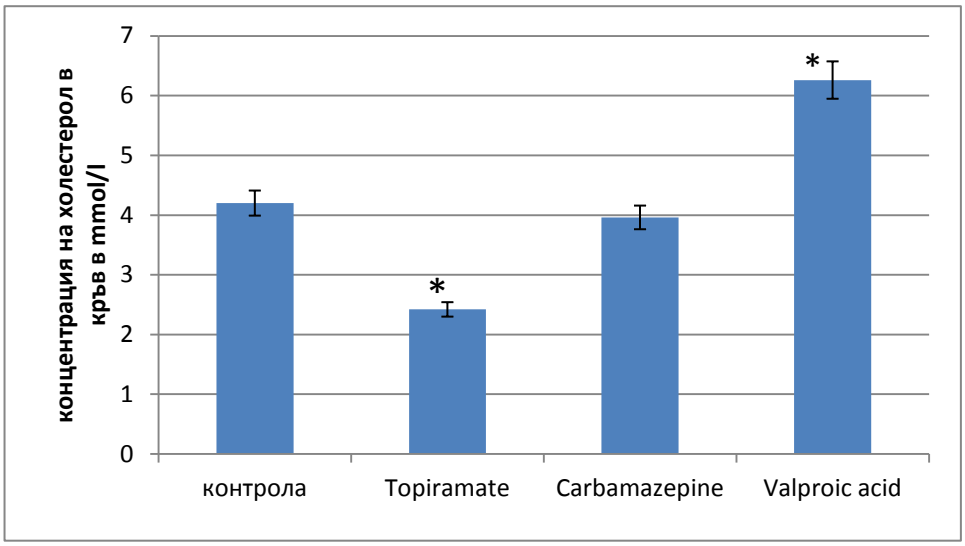
Фиг. 26. Влияние на 3 антиепилептични фармакологични средства – **валпроева киселина, карбамазепин и топирамат** върху серумните нива на глюкоза при мъжки половозрели плъхове. Отчита се повишаване в серумните нива на глюкоза, което е статистически значимо при сравняване с контролната група. Брой на животни в група 6-8. * $p<0,05$

Получените резултати показват, че изследваните антиепилептични средства повишават плазмените нива на глюкоза при лабораторни животни. Нивата на глюкоза се повишават до стойности характерни за предиабетно състояние. Получените резултати са в съответствие с наличните клинични данни при хора. Най-силно изразени са промените при животните, приемали валпроева киселина. Това съответства на наблюдаваните промени с теглото при тези животни.



Фиг. 27. Влияние на 3 антиепилептични фармакологични средства – **валпроева киселина, карбамазепин и топирамат** върху серумните нива на триглицериди при мъжки половозрели плъхове. Отчита се повишаване, което е статистически значимо в сравнение с контролната група. Брой на животни в група 6-8. * $p<0,05$.

Резултатите, получени от изследваните концентрации на триглицериди в кръв на лабораторни животни показват статистически значимото им повишаване под влияние и на трите фармакологични антиепилептични средства. Валпроевата киселина има най-изразен ефект.

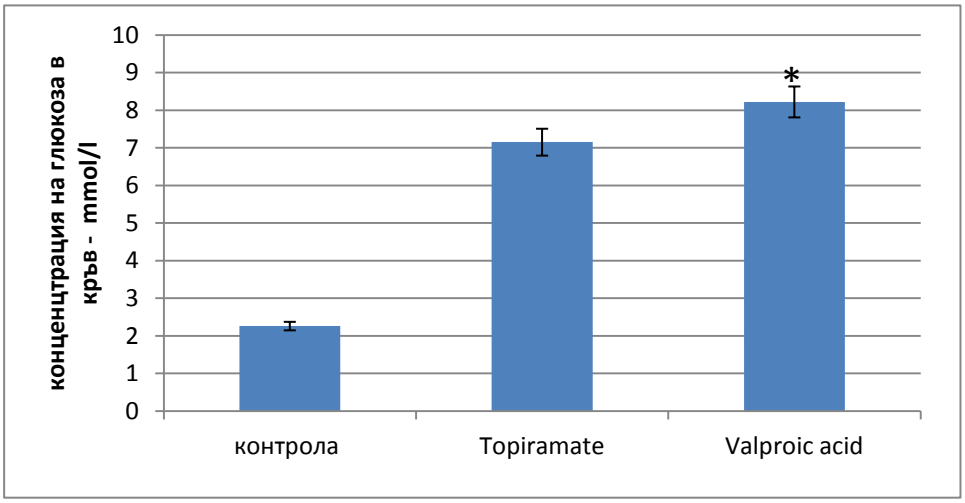


Фиг. 28. Влияние на 3 антиепилептични фармакологични средства – **валпроева киселина, карбамазепин и топирамат** върху серумните нива на общ холестерол при лабораторни животни. Отчита се повишаване под влияние на валпроева киселина и понижение при групата с топирамат, статистически значими в сравнение с контролната група животни. Брой животни в група 6-8. * $p<0,05$.

Изследването на общ холестерол в плазма на лабораторни животни показва разнопосочния ефект на проучваните антиепилептични лекарства. Топирамат, прилаган в дози 100mg/kg i.p. понижава статистически значимо общия холестерол под нивата на контролната група. Карбамазепин не променя нивата на общия холестерол в доза от 100mg/kg i.p. като те се запазват близки до контролните животни. При валпроевата киселина (50mg/kg i.p.) се наблюдава значимо повишение в общия холестерол. Всяко от фармакологичните лекарства е прилагано за период от 4 седмици.

Раздел 11: Сравнителни проучвания на карбамазепин, валпроева киселина и топирамат върху въглехидратни показатели при потомството на плъхове, третирани по време на бременност с посочените фармакологични средства

В литературният анализ бе посочено, че са оскъдни до липсващи резултатите за пренаталните ефекти на редица фармакологични антиепилептични средства. В настоящите изследвания се проведе проучване върху потомството на бременни животни, третирани с валпроева киселина или с карбамазепин или с топирамат. Плъховете бяха третирани след 12 ден от гестацията. Потомството беше изследвано в динамика на развитието си до 21-ия ден: кръвна захар, тегло, поведение, липиди, функция на черен дроб. Резултатите са представени по-долу:



Фиг. 29. Влияние на топирамат и валпроева киселина върху показатели на въглехидратната обмяна – серумни нива на глюкоза при новородени мъжки и женски плъхчета (възраст 3 седмици), третирани пренатално с фармакологичните средства. Брой на животни в група 2-6. *$p<0.05$.

Животните, третирани пренатално с валпроева киселина (13-ти ден от развитие на бременността с доза 450 мг/кг), показват повишени нива на глюкоза в кръв, които са близки до стойностите, характерни за предиабет. От всички третирани пренатално с топирамат (100 мг/кг) са оживели само 2 плъхчета, другите не доживяват раждането (резултатите на фигурата са от 2 животни за топирамат). При новородените, третирани пренатално с валпроева киселина наблюдаваният ефект е еднопосочен с този при неполовозрелите плъхове, само че е по-слабо изразен.

Раздел 12: Влияние на топирамат върху инсулин, лептин, глюкоза и липиди в кръв на мъжки плъхове с или без експериментално затлъстяване

Резултатите са представени на таблици 3, 4 и 5 както следва:

№ група	Инсулин	Лептин
1. Контролни животни	2.42+0.26	400+25
2. Опитна без затлъстяване с топирамат	1.76+0.42	380+40
3. Опитна със затлъстяване без топирамат	4.26+0.8	765+64
4. Опитна със затлъстяване и топирамат	1.52+0.36 *	530+42 *

Табл. 3. Концентрации на инсулин и лептин в плазма на женски неполовозрели плъхове с или без експериментално затлъстяване третирани с топирамат. Отчита се понижение в нивата на инсулин при групите, третирани с топирамат в сравнение с контролните групи, които не са третирани с фармакологичното средство. * $p<0.05$

№ група	Глюкоза	Липиди
1. Контролна, без затлъстяване и без топирамат	5.6+0.2	1.26+0.12
2. Опитна без затлъстяване с топирамат	5.3+0.3	1.34+0.26 *
3. Опитна със затлъстяване без топирамат	5.9+0.3	2.18+0.34
4. Опитна със затлъстяване и топирамат	5.2+0.4	1.48+0.26 *

Табл. 4. Влияние на топирамат върху глюкоза и липиди в серум на женски неполовозрели плъхове със или без затлъстяване. Отчита се понижение в нивата на глюкоза при групите, третирани с топирамат. Понижението в серумните нива на липиди е статистически значимо при групите третирани с топирамат спрямо контролните. * $p< 0.001$ в сравнение със съответната контрола

№ група	Тегло [g]
1. Контролна, без затлъстяване и без топирамат	220+10
2. Опитна без затлъстяване с топирамат	200+12
3. Опитна със затлъстяване без топирамат	270+14
4. Опитна със затлъстяване и топирамат	210+12*

Табл. 5. Влияние на 30-дневно приложение на топирамат заедно с и без богата на мазнини диета, върху тегло на мъжки неполовозрели плъхове.* $p<0.05$ в сравнение с група 3.

Резултатите от проучванията върху лептин и инсулин са нови в литературата относно влиянието на топирамат. Установи се, че топирамат намалява концентрациите на лептин в кръв на плъхове със

затлъстяване. Този резултат дава основание да се допусне централен механизъм на действие при наблюдаваните промени в теглото.

Отчетливи са и ефектите на топирамат върху концентрации на инсулин в серум на плъхове, които са захранвани с богата на мазнини храна. В резултат от проведеното захранване се отчитат повишени нива на инсулин в кръвта. Това се счита за един от критериите за развитие на инсулинова резистентност. Топирамат намалява концентрациите на инсулин в кръвта на животните. Възможно е топирамат да намалява инсулиновата резистентност при затлъстяване.

ЗАКЛЮЧЕНИЯ НА РАЗДЕЛ РЕЗУЛТАТИ:

Проведени са фармакологични проучвания с топирамат, карбамазепин и валпроат с или без експериментално затлъстяване. Опитите са хронични и са върху полово незрели мъжки и женски, както и върху полово зрели мъжки плъхове. Затлъстяването е създадено чрез прием на богата на мазнини храна от плъховете в продължение на 2 месеца. Топирамат е прилаган 8 седмицци на животни с или без затлъстяване. Карбамазепин и Валпроат са прилагани също за 8 седмици при животни без затлъстяване. В края на експериментите са определяни следните показатели в кръвта на изследваните плъхове: глюкоза, липиди, лептин и инсулин; общо телесна маса. Определени са концентрациите на катехоламините в мозъка. За първи път са установени при плъхове в период на растеж следните резултати:

- Топирамат намалява затлъстяването при животните;

- При модела на експериментално затлъстяване се увеличи концентрацията на лептин в кръв на полово незрели плъхове;

- Топирамат намалява концентрацията на лептин;

- Статистически значимо са променени инсулиновите плазмени нива под влияние на топирамат;

- Топирамат увеличава концентрацията на адреналин в мозък на плъхове в период на растеж

- Нивата на инсулин в плазма на плъхове в период на растеж се повишават при модел на затлъстяване;

- Топирамат намалява повишените инсулинови нива, когато се прилага при животни със затлъстяване;

-Карбамазепин понижава теглото на изследваните неполовозрели мъжки и женски плъхове в период на растеж

- Карбамазепин повишава нивата на катехоламини в мозъка

- Валпроева киселина понижава концентрациите на катехоламини в мозъка на мъжки и женски плъхове в период на растеж

- Валпроева киселина повишава значимо теглото както на мъжки, така и на женски плъхове в период на растеж.

Взети заедно резултатите показват метаболитни ефекти на изследваните лекарства върху половонезрели плъхове. Допуска се централен механизъм, по който се осъществява тези НЛР на изследваните антиепилептични лекарства.

ЧАСТ ЧЕТВЪРТА: ДИСКУСИЯ

Епилепсията е хронично заболяване, което изисква продължително лечение с различни медикаменти. Тя се проявява още в детска възраст, в периода на растеж, както при момичета, така и при момчета. Употребата на различни лекарства в детска възраст поставя въпроса за нежелани лекарствени ефекти, които могат да се отразят върху развитието на детския организъм. Сравнително слабо са проучени НЛР на антиепилептичните лекарства върху метаболизъм и метаболитни заболявания. Фармакологичните изследвания в настоящия труд демонстрират ефекти на три антиепилептични средства – валпроева киселина, карбамазепин и топирамат върху тегло, въглехидратна и мастна обмяна, хормони, регулиращи метаболизъм и апетит на експериментални мъжки и женски плъхчета с и без затлъстяване в период на растеж. За първи път се съобщават факти за 3-те фармакологични антиепилептични средства относно промени в метаболизма на плъхове в периода на растежа. За първи път се публикуват резултати за различен отговор на мъжки и женски неполово зрели плъхчета към НЛР на антиепилептични средства в период на растеж.

Валпроева киселина е широко прилагано средство за лечение на различни форми на епилепсия. Натрупаха се данни от клинични проучвания, че валпроевата киселина е възможно да повлияе върху заболявания като захарен диабет, затлъстяване и други. Изследванията ни върху нейните ефекти относно метаболизъм се стимулираха и с данните, че валпроева киселина има инхибиторен ефект върху ензими, свързани с епигенетика на заболявания (Lehrman G. et al., 2005; Chateauvieux S. et al., 2010; Shuttleworth S. et al., 2010). През 2009 г. колективът на van den Broek съобщава за случаи на хипогликемия при пациенти с епилептични

гърчове, които са лекувани с валпроева киселина. Установено е също, че при здрави пациенти продължителното приложение на валпроева киселина довежда до хипергликемия (Abraham R. et al., 1985). Експериментални проучвания върху плъхове с алоксанов захарен диабет демонстрират също влияние на валпроева киселина върху параметри на диабет (Abidemi J., et al., 2015). Установена е деструкция на бета-клетките от алоксан и влияние на валпроева киселина върху параметри на този експериментален диабет (Szkudelski T., 2001). Нашите резултати показват, че валпроева киселина променя параметри на въглехидратната обмяна при плъхчета с и без затлъстяване. Резултатите показват промени в показателите на глюкоза и инсулин в кръв на третираните продължително с валпроат мъжки и женски плъхчета. Съществува разлика в промяната на въглехидратната обмяна между плъхчетата със затлъстяване и плъхчетата без затлъстяване, която може да се обясни с начални промени във въглехидратния метаболизъм в хода на затлъстяване, на които валпроевата киселина повлиява по-силно. Изследванията в настоящия труд също демонстрират промени в показателите на мастна обмяна при нормогликемични плъхове. Тези промени са отчетени за валпроева киселина след продължителното третиране на животните в период на растеж. Те са по-значимо изразени при животните със създаден модел на затлъстяване и последващо третиране многократно (хронично) с валпроат. Резултатите върху триглицериди, холестерол и LDL нива в кръв на животните в настоящото проучване могат да се обяснят с хипотезата, че валпроева киселина потиска изграждането на мастите в тъканите. Тази хипотеза се подкрепя от изследователи (Zhou W., et al., 2006; Murali B., et al., 2002 и др.). Нашите резултати също подкрепят тази хипотеза. Механизмите, чрез които валпроева киселина въздейства върху показателите на метаболизъм са различни, но могат да се разделят на

централни (на база нейния механизъм на антиепилептично действие) и периферни (на база данните за пряко влияние на валпроева киселина върху клетките). За обяснение на механизмите ние допуснахме възможна роля на валпроева киселина върху свободни радикали и проведохме изследвания, както in vivo, така и in vitro. In vivo изследванията подкрепят влиянието на валпроева киселина върху свободните радикали. Направените от нас пилотни изследвания на валпроева киселина върху клетъчни култури и определяне на показатели на антиоксидантна активност показват намаляване нивата на глутатион в клетките взети от нормогликемични плъхчета. Известно е, че глутатион е важен клетъчен антиоксидант. Възможно е чрез влияние на клетъчно ниво върху баланса между ROS и глутатион, чрез намаляване нивата на глутатион да се повлияват механизми в черен дроб и тъкани, свързани с въглехидратна и мастна обмяна. В подкрепа на това допускане са резултати от други автори, които доказват патологически изменения в черния дроб след продължително третиране на плъхчета с валпроева киселина (хистологични изследвания). В подкрепа на нашите резултати са изследванията на (Rogiers V., et al., 1985) доказващи, че валпроевата киселина инхибира глюконеогенезата и редуцира нивата на глюкоза при in vitro експерименти. Проучванията на валпроева киселина също доказват, че тя влияе като AMPK активатор и редуцира глюкоза в серума и акумулация на мазнини в черен дроб на мишки със затлъстяване (Avery B., et al., 2014). В допълнение са публикувани резултати, че валпроева киселина оказва протективно действие на бета-клетките на панкреаса към индуцираното с палмитет стресова апоптоза (Huang S., et al., 2014). При хора с епилепсия и провеждане на теста за глюкозен толеранс е отчетен понижаващият ефект на валпроева киселина при този тест (Rakitin A., et al., 2015). Това проучване подкрепя нашите резултати при провеждане на

оралният тест за глюкозен толеранс при отделните експерименти. Взети заедно нашите резултати ни дават основание да направим заключението, че продължителното третиране с валпроева киселина повлиява мастна обмяна и да допуснем възможно влияние на това фармакологично средство върху инсулинова резистентност свързана със затлъстяване (нашите резултати в условия на затлъстяване подкрепят посоченото). Въпреки съществуващи противоречия относно степента на ефекта на валпроева киселина върху метаболизъм (Kanemura H., et al., 2012) повечето автори подкрепят със своите клинични изследвания представените в настоящия дисертационен труд експериментални резултати.

Едно от антиепилептичните фармакологични средства, обект на настоящите изследвания е топирамат, което в комбинация с фентермин е утвърдено в САЩ за приложение при хора със затлъстяване и усложнения. Топирамат е пример за лекарство, което може да повлияе епилептичните гърчове и да намали усложненията от затлъстяване при пациенти с епилепсия. Фармакологичните проучвания показват, че топирамат има сложен механизъм на действие, който включва повлияване активността на гама-аминомаслена киселина, модулация на волтажни клетъчни канали, блокиране на AMPA-каинови глутаматни рецептори, блокиране на карбонатна анхидраза в мозък и др. (). Настоящите проучвания показват, че топирамат намалява теглото на мъжки и женски животни, намалява риска за развитие на захарен диабет при животните с експериментално затлъстяване и повлиява хормони, регулиращи апетита лептин и инсулин. Тези наши резултати се подкрепят от клиничните проучвания, публикувани в различни фази на изследвания от различни изследователи, че топирамат намалява усложненията на затлъстяване,

усложненията на диабет, абдоминалното затлъстяване и др. (Gadde K. et al., 2011; Garvey W. et al., 2011; Garvey W. et al., 2012). Новост в литературата са нашите данни с топирамат относно повлияване на тегло и показатели на метаболизъм върху подрастващи животни (изследванията върху неполово зрели мъжки и женски плъхчета с продължително третиране с топирамат). Резултатите и от двете групи без затлъстяване и със затлъстяване се различават – по-значима е ефективността на топирамат при животните със затлъстяване. Статистически значимо намаляват липидите в кръвта на животни със затлъстяване и няма статистически значим ефект върху липидите при животни без затлъстяване. Топирамат статистически значимо намалява теглото на животните със затлъстяване. Известно е, че лептин е хормон, който регулира апетита и показатели на метаболизъм . При нашите изследвания за първи път се демонстрира влияние на топирамат върху лептин на животни със затлъстяване и без затлъстяване. Топирамат статистически значимо намалява концентрациите на лептин в серум на животни със затлъстяване в сравнение с контролната група със затлъстяване. Отчетено в проценти това намаляване е с около 35%. Представените резултати в дисертацията показват тенденция за намаляване на лептин при опитните животни без затлъстяване, но няма статистическа значимост в резултатите с контролната група. Проучванията с лептин могат да обяснят частично механизма на действие на топирамат при затлъстяване, който е свързан с потискане на лептин, съответно механизми, регулиращи централно апетита при животните. Следващата новост в проучванията върху животни в период на растеж са резултати от изследване влиянието на топирамат върху инсулин при животни с и без затлъстяване. Топирамат статистически значимо намалява кръвните нива на инсулин при мъжки плъхове със затлъстяване в сравнение с контролната група. При

животните без затлъстяване се установява също намаляване на концентрациите на инсулин в кръв, но без статистическа значимост в контролната група. Взети заедно резултатите от проведените изследвания показват, че топирамат намалява статистически значимо теглото на експерименталните плъхове в период на растеж чрез повлияване на 2 важни хормона, свързани с регулация на метаболизъм и в частност на апетит. Наблюденията върху животните в хода на хроничните изследвания също показаха прием на по-малко обемна храна от тези, третирани с топирамат, което бе по-значимо отчетено при тези на високо калорийна мастна диета. В хода на изследванията ние допуснахме, че значение в механизмите на действие на топирамат върху метаболизъм имат биогенните амини на мозък (катехоламини). При сравнителните изследвания, представени в настоящия дисертационен труд е отечетно влиянието на топирамат върух нива на катехоламини при мъжки и женски животни. Топирамат повишава статистически значимо катехоламините в мозък на изследваните животни, което корелира с намаляване на теглото на животните в периодът на изследване. Ефектът на топирамат върху катехоламини на мозък бе отчетен, както при животните със затлъстяване, така и при животните без затлъстяване.

Както по-горе посочихме, при дискусията върху резултатите за валпроева киселина, така и тук подчертаваме, че свободните радикали имат роля в развитието на затлъстяване и епилепсия. Това определи и направления в проучванията на топирамат свързано с изследвания върху концентрация на свободни радикали в кръв на лабораторни животни с експериментален модел на затлъстяване. Високо калорийната мастна диета повиши значимо радикалообразуването в кръвната плазма на изследваните животни. За първи път съобщаваме за различия в промените

между мъжки и женски подрастващи животни. При женските животните концентрацията на свободни радикали бе установено по-висока в сравение с тази при мъжките животни. Противно на очакваното от нас намаляване на свободните радикали от топирамат при женските животни топирамат увеличи свободните радикали в плазмата, статистически значимо с контролната група женски животни. Допускаме роля на метаболитите на обменните процеси в организма под влияние на топирамат (само хипотеза). Метаболитните промени под влияние на топирамат са отчетени в различни изследвания, свързани с приложението на лекарството, както при епилепсия, така и при мигрена, така и при затлъстяване. Голям обзор на различните изследвания е публикувано от Dell „Орто“ и сътр. през 2014 г. Между м. декември 2012 г. и м. май 2013 г. за топирамат са публикувани различни факти, свързани с метаболизъм, които са важни да ги отбележим в настоящата дискусия, защото част от тях могат да обяснят намерените резултати. Публикувани са резултати за предизвиквани от топирамат: ацидоза, хипокалиемия, нарушения в електролитните баланси, хиперурикемия и др. Нарушението в електролитните баланси може да се свърже частично с промяната в свободните радикали, която се отчете под влияние на топирамат. В посочения обзор се отбелязва, че има малко изследвания за изследванията върху деца в експерименти при подрастващи животни. Това корелира и с резултата от нашия литературен анализ, определящ да поставим топирамат в целта и задачите на изследванията относно влияние на механизма на метаболизъм върху подрастващи животни от двата пола. В допълнение в настоящия дисертационен труд са представени резултатите за влияние на топирамат върху потомството на бременни животни, третирани с посоченото фармакологично средство. Ние установихме следните промени върху потомството:чакат се резултатите да се

изчислят). Резултатите от проведените изследвания с топирамат, се подкрепят от факти, публикувани в литературата (National Heart, Lung, and Blood Institutep 1998; Klein S., et al., 2004). В допълнение се съобщават много факти за влиянието на топирамат върху функцията на бъбреците и метаболитна ацидоза (Mechanick J., et al., 2012; Mechanick J., et al., 2013; Hofsø D. et al., 2012; Davidson M. et al., 2013; Alberti K. et al., 2009). При нашите изследвания не сме фокусирали върху бъбрек, което е цел на бъдещи проучвания.

Ролята на свободните радикали в епилептогенеза и влияние на антиепилептични лекарства върху оксидативен стрес е проучвана от редица автори. Повечето се обединяват, че в сложната етиология и патогенеза на епилепсия, повишеното образуване на свободни радикали има една от водещите роли (Brookes P. et al., 2002,). Митохондриите, които контролират калциевите нива в клетките са таргетно място за регулация на свободните радикали и за действие на някои антиепилептични средства. Установено е, че повишени концентрации на калций в клетката водят до повлияване на ензими с роля в модулация на оксидативен стрес (McCormack G., Denton R., 1990). Калцият увеличава продукцията на ROS (Perez-Campo R. et al., 1998). В допълнение калцият активира nitric oxide synthase (NOS) (Brookes P. et al., 2004). В допълнение са приведени много факти за регулация на епилептогенезата чрез ROC и антиоксиданти (Poon H. et al., 2004; Delorenzo R. et al., 2005 и др.). Антиепилептичните лекарства са обект на проучвания за влияние върху ROC. Редица параметри се изследват, както в кръв, така и в тъкани. При нашите проучвания ние изследвахме и трите фармакологични средства (валпроева киселина, топирамат и карбамазепин) за влияние върху оксидативен стрес. Резултатите ни се подкрепят от данни на други автори,

които документират, че двата лекарствени продукта - валпроева киселина и карбамазепин повлияват нарушенията в тъканите, свързани с оксидативен стрес по няколко механизма (Karikas et al., 2009). Един от механизмите е повлияване на антиоксидантната защита, който ние демонстрираме чрез изследванията в глутатион в настоящия труд. Вторият механизъм е повлияване на маркери за оксидативен стрес, които са ензими. Валпроевата киселина намалява тоталната антиоксидантна защита на клетките (Hamed S. et al., 2004; Schulpis K. et al., 2006) и увеличава оксидативния стрес (Schulpi et al., 2006). Нашите резултати от in vitro изследванията показват намалени концентрации, което дискутирахме по-горе. Карбамазепин също е изследван в направление оксидативен стрес. Има данни за образуване на свободни радикали и предизвикване на клетъчна смърт под влияние на карбамазепин (Hamed S. et al., 2004; Aycicek A., Iscan A. 2007; Niketic V. et al., 1995). Нашите изследвания фокусираха върху свободни радикали със задачата да обясним задачата на повлияване на метаболизъм. Промените, които отчетохме във въглехидратна и мастна обмяна могат да се дължат на периферни ефекти на антиепилептичните лекарства и част от тях да се обяснят с въздействие между баланса между оксиданти и антиоксидантни системи на клетъчно ниво. Това е хипотеза, за която са необходими повече изследвания върху различни параметри на оксидативен стрес и антиоксидантна защита на клетката. Резултатите от изследавнията върху свободните радикали внасят принос за ролята им в патогенезата на затлъстяване и в механизми на действие на антиепилептични лекарства в условия на затлъстяване. Резултатите са получени от изследвания върху животински модели и могат да служат само за база да се изкаже хипотезата, че при подрастващи деца е възможно повлияване на оксидативния статус от антиепилептични лекарства. Увеличаването на

свободните радикали може да доведе до изтощаването на бета-клетките, произвеждащи инсулин, което е съобщено за хора със затлъстяване. В допълнение продължителното лечение с изследваните в настоящия труд фармакологични средства може да допринесе за задълбочаване на промените в баланса между оксидативен стрес и антиоксидантна защита. Предвид ролята на свободните радикали е важно да се подчертае, че настоящия дисертационен труд внася принос за ролята на свободните радикали при подрастващи и възможно участие в механизми на оксидативен стрес на антиепилептични лекарства. Промените, които са отразени в резултати от изследванията върху потомството на бременни, третирани с антиепилептични лекарства могат да се обяснят частично и с влиянието на свободните радикали, макар че нямаме данни конкретно за потомството. Но данните от ефекта на валпроева киселина върху развиващите се невронални клетки взети от новородени плъхчета в клетъчни култури могат да подкрепят посоченото твърдение. При in vitro изследвания валпроевата киселина и карбамазепин намаляват концентрациите на глутатион (антиоксидантна защита на клетката).

Карбамазепин е едно от най-старите антиепилептични средства, което продължава да намира място при лечение, както на възрастни, така и при някои случаи на епилепсия на деца. По-стари изследвания демонстрират риска за черен дроб от карбамазепин, но няма данни за детска възраст. Данните в настоящия труд се различат от данните на други автори по влиянието на карбамазепин върху лекарство-метаболизиращите ензими на черния дроб. Влиянието върху тези ензими е важно при комбинация с други лекарства, отчитайки продължителното приложение на карбамазепин.

ЧАСТ ПЕТА: ИЗВОДИ

1. Създаден е експериментален модел на затлъстяване на мъжки и женски животни в период на растеж и са установени ефектите на 3 антиепилептични фармакологични средства – валпроева киселина, карбамазепин и топирамат върху динамиката на теглото**.**

2. За първи път се съобщават данни за различия в ефектите на изследваните 3 антиепилептични лекарства върху тегло на мъжки и тегло на женски животни със затлъстяване**.**

3. Установени са промени под влияние на топирамат в нивата на лептин, инсулин, глюкоза и липиди в кръв подрастващи мъжки и женски плъхове.

4. Установени са промени в нивата на адреналин и серотонин в мозък на подрастващи мъжки и женски животни, третирани с топирамат. Топирамат повишава нивата на катехоламини в мозък на плъхове отглеждани в условия на виссококалорийна мастна диета.

5. Документирани са промени в нивата на серотонин и тотални катехоламини в мозък на неполовозрели мъжки и женски плъхове, третирани с карбамазепин и валпроева киселина в период на растеж.

6. Проведени са сравнителни проучвания на три антиепилептични фармакологични средства (валпроева киселина, карбамазепин и топирамат) прилагани на бременни животни за влияние върху метаболитни показатели на потомството (мъжки и женски) по време ранното им развитие. Нови факти за риск за метаболизма на потомството са демонстрирани с резултати от посочените изследвания.

7. Метаболитни изменения под влияние на три антиепилептични средства (валпроева киселина, карбамазепин и топирамат) са установени и при възрастни със затлъстяване плъхове.

8. Взети заедно, резултатите от проведените изследвания внасят нови експериментални факти за промени в метаболитни показатели по време на разтежа под влияние на три употребявани в клиничната практика антиепилептични фармакологични средства (валпроева киселина, карбамазепин и топирамат). Тези нови факти допълват както фармакодинамиката, така и токсикологията (НЛР) на трите фармакологични средства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алмазов В., Благословская В., Шляхто В. Синдром инсулинорезистентности (история вопроса, патогенез, подходы к лечению) .Сборник научных трудов, 2000;1: 353–363.
2. Аметов С., Демидова Ю., Целиковская А. Ожирение и сердечно-сосудистые заболевания. Терапевтический архив, 2001; 73 (8): 66–69.
3. Бутрова А. Висцеральное ожирение — ключевое звено метаболического синдрома. Ожирение и метаболизм, 2004; 1: 10–16.
4. Верткин А. , Аристархова О. , Скотников А. СРоль современных сахароснижающих и антиоксидантных препаратов в фармакотерапии сахарного диабета 2-го типа и его осложнений. Лечащий Врач, 2009; 3: 69–74.
5. Дедов И., Балаболкин И., Марова.И. Болезни органов ендокринней системы: Руководство для врачей. Медицина; 2000

6. Джанашия Х., Мирина Ю. Глюкофаж — профилактика сердечно-сосудистых заболеваний при сахарном диабете. Русский медицинский журнал, 2009; 18.
7. Мамедов Н. Руководство по диагностике и лечению метаболического синдрома. М.: Мультипринт, 2005; 13: 59–65.
8. Мельниченко Г. А. Ожирение в практике эндокринолога. Русский медицинский журнал, 2001;9.
9. Новикова В., Рунихин Ю. Современные аспекты патогенеза и лечения сахарного диабета 2 типа. Русский медицинский журнал, 2007; 27.
10. Перова В., Метельская А. Ожирение ведет к атеросклерозу. Профилактика заболеваний и укрепление здоровья, 2004; 1:40–45.
11. Садовникова И. Метаболический синдром и антагонисты кальция: нейтралитет или сотрудничество? Русский медицинский журнал, 2007; 15.
12. Чазова Е., Мычка Б. Метаболический синдром. М.: Media Medica, 2004; 1: 47–49.
13. Шотеков. Неврология. Арсо 2015.
14. Abraham R. ,Dornhost A., Wynn V. et al. Corticotropin, cortisol, prolactin anjd growth hormone responses to insulin induced hypoglicemian normal subjects given sodium valproate. Clinical Endocrinology 1985; 2:639-644
15. Al Wattar B., Placzek A., Troko J., McCorry D., Zamora J., Thangaratinam S.; EMPIRE Collaborative Network. Variation in the reporting of outcomes among pregnant women with epilepsy: a systematic review. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 2015;195:193-9

16. Alberti K., Eckel R. Et al.Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity.Circulation. 2009; 120(16):1640-5
17. Albrecht J., Sidoryk-Węgrzynowicz M., Zielińska M., Aschner M. Roles of glutamine in neurotransmission. Neuron Glia Biology. 2010; 6(4):263-76.
18. Alyu F., Dikmen. Inflammatory aspects of epileptogenesis: contribution of molecular inflammatory mechanisms. Acta Neuropsyhiatrica**;** 2017; 29: pp. 1-16
19. Asconape J., Penry J., Dreyfus Fe et al. Valproate related to pancreatitis. Epilepsia, 1993; 34: 177-183.
20. Avery L.and Namandjé N. Bumpus Valproic Acid Is a Novel Activator of AMP-Activated Protein Kinase and Decreases Liver Mass, Hepatic Fat Accumulation, and Serum Glucose in Obese Mice. Molecular Pharmacology. 2014 Jan; 85(1): 1–10.
21. Aycicek A, Iscan A.The effects of carbamazepine, valproic acid and phenobarbital on the oxidative and antioxidative balance in epileptic children. European Neurology. 2007; 57(2):65-9
22. Bailey C. J., Day C. Thiazolidinediones today; British Journal of Diabetis and vascular diseas. 2001;1: 7–13.
23. Baulac A., F Semah Arzimanoglou, Cavalcanti D. Therapeutic opportunities offered by new antiepileptic drugs. Reveau Neurology (Paris) 1997; 155: 21-33.

24. Beghi E., Giussani G., Grosso S., Iudice A., La Neve A, Pisani F, Specchio LM, Verrotti A, Capovilla G, Michelucci R, Zaccara G.Withdrawal of antiepileptic drugs: guidelines of the Italian League Against Epilepsy.Epilepsia. 2013;54 (7):2-12.
25. Belin E.J., Mintz J.D, Rainey E.W., Stepp D.W.Impact of leptin-mediated sympatho-activation on cardiovascular function in obese mice Hypertension. 2011;58(2): 271–279
26. Benedetti M. Enzyme induction and inhibition of new antiepileptic drugs: Review human studies. Fundamenatal and clinical pharmacology 2000; 14 : 301-11.
27. Beydoun W., Sackellares J., Xu V. Safety and efficacy of sodium valproate monotherapy in partial epilepsy: a double-blind, concentration-response clinical trial design. Depakote monotherapy for partial seizures, study group. Neurology. 1997; 48: 182-8.
28. Bill P., Vigonius U., Pohlmann H. et al. One double-blind controlled clinical trial of oxcarbazepine versus phenytoin in adults with untreated epilepsy. Epilepsy RES 1997; 27: 195-204.
29. Binek J., Nastya H. Valproic acid-induced pancreatitis. Case report and literature review. Journal of Clinical Gastroenterol 1991; 13: 690-3.
30. Borgelt L., Hart F., Bainbridge J. Epilepsy during pregnancy: focus on management strategies.International journal of womens health. 2016; 8:505-517.
31. Bourdet S., Gidal I., Alldredge B. Pharmacological management of epilepsy in the elderly. Journal of American Pharmocological Association 2001; 41: 421-36.
32. Brandt C., Mula M. Anxiety disorders in people with epilepsy. Epilepsy Behavior. 2016; 59: 87-91.

33. Branimir C., Shin C., Miller P. et al. Reversible parkinsonism and cognitive impairment with chronic valproate use. Neurology 1996; 47: 626-35.
34. Brewerton T., Jackson C. Prevention of carbamazepine-induced as demeclocycline in six patients. Journal of Clinical Psychiatry 1994; 55: 249-51.
35. Brookes P. Mitochondrial nitric oxide synthase. Mitochondrion. 2004; 3(4): 187-204.
36. Camfield C., Camfield P., Smith E., Tibbles J. Asymptomatic children with epilepsy: little benefit from screening for anticonvulsant-induced liver, blood or based damage. Neurology 1986; 36: 838-841.
37. Carey D., Cowin G., Galloway G. et al. Sensitivity effect of rosiglitazone on insulin and body fat composition in type 2 diabetic patients. Obesity Research. 2002; 10: 1008–101.
38. Carlson C., Anderson C. Special Issues in Epilepsy: The Elderly, the Immunocompromised, and Bone Health.Continuum (Minneapollis Minn). 2016; 22(1): 246-61
39. Castillo S., Schmidt D., White S. Oxcarbazepine add-resistant partial epilepsy (Cochrane review). Q: Library Cochrane, 1.2001.
40. Chadwick D. Safety and efficacy of vigabatrin and carbamazepine in newly diagnosed epilepsy: multicentre randomized double blind study. Vigabatrin monotherapy European research group. Lancet 1999; 354: 13-9.
41. Chadwick D., Shaw M., Foy P. et al. Anticonvulsant serum concentrations and risk of drug-induced skin rashes. Psychiatry Journal Neurology Neurosurgery 1984; 47: 642-4.
42. Champion R., Burton J., Ebling F. Textbook of Dermatology. Fifth edition. London: Blackwell Scientific Publications, 1992; 2986-7.

43. Chappell K., Markowitz J., Jackson C. Valproate pharmacotherapy associated with polycystic ovaries is it. Annual Pharmacotherapy 1999; 33: 1211-6.
44. Charlton M., Plosker G. Levetiracetam: Review of its combined use in the management of partial seizures. Drugs 2000; 60: 871-93.
45. Chateauvieux S., Franck M., Mario D., and Marc D. Molecular and Therapeutic Potential and Toxicity of Valproic Acid. Journal Biomedicine and Biotechnology. 2010; 201: 479364.
46. Christe W., Kramer G., Vigonius U. One double-blind controlled clinical study: oxcarbazepine versus sodium valproate in adults with newly diagnosed epilepsy. Epilepsy Research 1997; 26: 451-60.
47. Cornelissen M., Steegers-Toynisen R., Kollee L. et al. Increased morbidity data on neonatal vitamin K deficiency resulting from maternal anticonvulsant exposure. American Journal of Obstetetry and Gynecology 1993; 168: 923-7.
48. Cramer J., Mattson R. Phenobarbital: toxicity. Q: The fee RH, Mattson RH, Meldrum BS, eds. antiepileptic medications. 4. Ed. New York, NY: Raven Press; 1995; 409-20.
49. Crawford P. Best practice guidelines for the management of women with epilepsy.Epilepsia. 2005; 46 (9):117-24.
50. Crawford P.Epilepsy and pregnancy.Seizure. 2002;11(A) : 212-9.
51. Dalic L., Cook M. Managing drug-resistant epilepsy: challenges and solutions.Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2016; 12 : 2605-2616
52. Dam M., Yning R., Ekberg. et al. Double-blind study comparing oxcarbazepine and carbamazepine in patients with newly diagnosed, previously untreated epilepsy. Epilepsy Research 1989; 3: 70-6.

53. Davidson M., Tonstad S., Oparil S., Schwiers M., Day W., Bowden C. Changes in cardiovascular risk associated with phentermine and topiramate extended-release in participants with comorbidities and a body mass index ≥27 kg/m(2). American Journal of Cardiology. 2013; 111(8): 1131-8
54. Dean J., Penry J. Weight gain patterns in patients with epilepsy: comparison of anti-epileptic drugs. Epilepsia 1995; 36: 2.
55. Delorenzo R., Sun D., Deshpande L. Cellular mechanisms underlying acquired epilepsy: the calcium hypothesis of the induction and maintainance of epilepsy. Pharmacology and Therapeutics. 2005; 105(3): 229-66.
56. Diamant M., Heine R. Thiazolidindionediones in type 2 diabetes mellitus: current clinical evidence. Drugs. 2003; 63: 1373–1405.
57. Dinesen H., Andersen T., Grozdanova M. Weight gain during treatment with valproate. ACTA Neurologica Scandinavia 1984; 70: 65-9.
58. Dreyfus F., Fee R., Mattson R., Meldrum B. et al. Valproate: toxicity in antiepileptic medications. 4. Ed. New York, NY: Raven Press 1995; 641-8.
59. Dreyfus F., Langer D. Liver considerations in the use of antiepileptic drugs. Epilepsia 1987; 28: 23-29.
60. Drory V., Korczyn A. Hypersensitivity vasculitis, and systemic lupus erythematosus, caused by anticonvulsants. Clinical Neuropharmacology 1993; 16: 19-29.
61. Egger J., Brett E. Effects of sodium valproate in 100 children with special reference to weight. BMJ 1981; 283: 577-81.
62. Eldon M., Underwood B., Randinitis N., Sedman A. Gabapentin does not interact with the contraceptive system of norethindrone acetate and ethinyl estradiol. Neurology 1998; 50: 1146-8.

63. Emilien G., Maloteaux J. Pharmacological management of epilepsy. Mechanism of action, pharmacokinetic drug-drug interactions, drug discovery and new opportunities. International Journal of Clinical Pharmacology and Therapy 1998; 36: 181-94
64. Engel J., Pedley T. Epilepsy: a comprehensive textbook. Philadelphia, Lippincott Raven 1997; 1544.
65. Faught E., Morris G., Jacobson M. et al. Adding lamotrigine to valproate: data on the incidence of rash and other adverse effects. Postmarketing study antiepileptic drug (pads) group. Epilepsia 1999; 40: 1135-40.
66. Frank M. Besag N. New developments in the treatment of partial-onset epilepsy. Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2012; 8: 455–464.
67. French J., Arrigo C. Rapid onset of action of levetiracetam in refractory epilepsy patients.Epilepsia. 2005; 46(2): 324-6.
68. Fritsch P., Ruiz-Maldanado R. Stevens - Johnson syndrome, toxic epidermal necrolysis, which. Dermatology in General Medicine. New York: McGraw Hill 1999,1: 644-653.
69. Gadde K., Allison D., Ryan D., Peterson C., Troupin B., Schwiers M., Day W. Effects of low-dose, controlled-release, phentermine plus topiramate combination on weight and associated comorbidities in overweight and obese adults (CONQUER): a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial.Lancet. 2011; 377(9774): 1341-52.
70. Gao L., Li S. Emerging drugs for partial-onset epilepsy: a review of brivaracetam.Therapeutic and Clinical Risk Management. 2016; 12: 719-34
71. Garvey W., Allison D., Gadde K., Peterson C., Schwiers M., Najarian T., Tam P., Troupin B., Day W. Controlled-release phentermine/topiramate

in severely obese adults: a randomized controlled trial (EQUIP)Obesity (Silver Spring). 2012; 20(2): 330-42

72. Garvey W., Ryan D., Bohannon N., Rueger M., Dvorak R., Troupin B. Weight-loss therapy in type 2 diabetes: effects of phentermine and topiramate extended release.Diabetes Care. 2014; 37(12): 3309-16.
73. Garvey W., Ryan D., Look M., Gadde K., Allison D., Peterson C., Schwiers M., Day W., Bowden C. Two-year sustained weight loss and metabolic benefits with controlled-release phentermine/topiramate in obese and overweight adults (SEQUEL): a randomized, placebo-controlled, phase 3 extension study.American Journal of Clinical Nutrition. 2012; 95(2): 297-308.
74. Gennis M., Vemuri R., Burns E. et al. Familial occurrence of hypersensitivity to phenytoin. American Journal of Medicine 1991; 91: 631-4.
75. Glauser T.. Topiramate. Epilepsia 1999; 40 (5): 71-80.
76. Guberman A. Vigabatrin. Canadian Journal of Neurology Science 1996; 23: 13-17.
77. Guberman A., Besag F., Wandering M. et al. Lamotrigine associated rash: risk / benefit considerations adsults and children. Epilepsia 1999; 40: 985-91.
78. Guberman A., Bruni J. Long-term open multicentre, an additive process of vigabatrin in Adult resistant partial epilepsy. Canadian research group Vigabatrin. Seizure 2000; 9: 112-8.
79. Guerrini R., Belmonte A., Genton P. Antiepileptic drug-induced deterioration of seizures in children. Epilepsia 1998; 39: 2-10.
80. Haidukewych D., John G. Chronic Valproic acid and coantiepileptic drug therapy and incidence data for increases in serum liver enzymes. Therapy Drug tracked. 1986; 8: 407-10.

81. Hamed S., Abdellah M., El-Melegy N. Blood levels of trace elements, electrolytes, and oxidative stress/antioxidant systems in epileptic patients.Journal of Pharmacology Science. 2000;96(4): 465-73
82. Harlow B., Natick D., Baron J. et al. Psychotropic medication use and the risk of epithelial ovarian cancer. Cancer Epidemiology Biomarkers Preview 1998; 7: 697-702.
83. Havi L. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome.1998; 16: 54-57.
84. Herzog A. Reproductive reasons, endocrine and hormonal therapy for men with epilepsy. Epilepsia 1991; 32: 34-37.
85. Herzog A., Klein P., Jacobs A. Testosterone on testosterone and testolactone in the treatment of reproductive and sexual breakthrough in men with epilepsy and hypogonadism. Neurology 1998; 50: 782-4.
86. Hey E. Effect of maternal anticonvulsant treatment of neonatal bleeding Archive Disease Child fetus Neonatal Ed 1999; 81: 208-210.
87. Hong S., Dimitrov S., Pruitt C., Shaikh F., Beg N. Benefit of physical fitness against inflammation in obesity: role of beta adrenergic receptors. Brain Behav Immun. 2014; 39: 113–120
88. Hostalek U. Therapeutic Use of Metformin in Prediabetes and Diabetes Prevention Drugs July 2015; 75(10): 1071–1094
89. Howe A., Oakes D., Woodman P., Webster W. Prothrombin and levels in cord blood of newborns exposed to anticonvulsants during pregnancy. Epilepsia 1999; 40: 980-984.
90. Huang S., Ingber D. Shape-dependent control of cell growth, differentiation, and apoptosis: switching between attractors in cell regulatory networks.Experimental Cell Research. 2000; 261(1): 91-103.
91. Isojärvi J., Turkka J., Pakarinen A., Kotila M., Rättyä J., Myllylä V. Thyroid function in men taking carbamazepine, oxcarbazepine, or valproate for epilepsy. Epilepsia 2001;42(7): 930-4

92. Jacob S, Nair AB. An Updated Overview on Therapeutic Drug Monitoring of Recent Antiepileptic Drugs. Drugs in R and D. 2016; 16(4): 303-316.
93. Jeffrey B., Mietlicki-Baase E., Olivos D., Hayes M. Cooperative interaction between leptin and amylin signaling in the ventral tegmental area for the control of food intake.American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism. 2015; 308(12): 1116-22.
94. Jousilahti P., Tuomilehto J., Vartiainen E. et al. Body weight. cardiovascular risk factors? End coronary mortality: 15-years follow-up of middle-aged men and women in eastern Finland. Circulation. 1996; 93: 1372–1379.
95. Marín-Peñalver J., Martín-Timón I., Sevillano-Collantes C. Update on the treatment of type 2 diabetes mellitusWorld Journal of Diabetes. 2016; 7(17): 354–395.
96. Kanemura H., Sano F., Maeda Y., Sugita K., Aihara M. Valproate sodium enhances body weight gain in patients with childhood epilepsy: a pathogenic mechanisms and open-label clinical trial of behavior therapySeizure. 2012; 21(7): 496-500
97. Karikas G., Schulpis K., Bartzeliotou A., Regoutas S., Thanopoulou C., Papaevangelou V., Giannoulia-Karantana A., Papassotiriou I., Fytou-Pallikari A. Early effects of sodium valproate monotherapy on serum paraoxonase/arylesterase activities. Scandinavian Journal Clinical Laboratory Investigation. 2009; 69(1): 31-5.
98. Kawamura T., Morioka T., Nishio S., Fukui K., Yamasaki R., Matsuo M. Temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis and a contralateral middle fossa arachnoid cyst.Seizure. 2002; 11(1): 60-2.

99. Kelemen J., Cioffi W., McManus W. et al. Burn care center for patients with toxic epidermal necrolysis that. J Am Coll Surg 1995; 180: 273-8.
100. Kenneback G., Bergfeldt L., Vallin H. et al. Clinical Electrophysiologic effects and dangers of carbamazepine treatment of neurological disorders in patients with abnormalities of cardiac conduction system. International Heart Journal 1991; 121: 1421-8.
101. Kishi T., Fujita N., Eguchi T., Ueda K. Mechanism to reduce serum folate of antiepileptic drugs during prolonged therapy. Journal of Neurology Science 1997; 145: 109-12.
102. Knowles S., Shapiro L., Shear N. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: data on the incidence, prevention and management. Drug safety 1999; 21: 489-501.
103. Kramlinger K., Phillips K., Post R. Rash complicates carbamazepine treatment. Journal Clinical Psychopharmacol 1994; 14: 408-13.
104. Krauss G., Crone N. Non-CNS side effects of antiepileptic drugs.http://www.Medscape.com/Medscape/Neurology/TreatmentUpdate/2000/tu02/Public/TOC-tu02.HTML.
105. Krauss G., Simmons-O'Brien E., Campbell M. Successfully treat seizures and porphyria with Gabapentin. Neurology 1995; 45: 594-5.
106. Kugoh T.,Yamamoto M., Todor K. Blood ammonia level during Valproic acid therapy. Japan Journal Psychiatry Neurology 1986; 40: 663-8.
107. Lamotrigine addition fordrug resistant partial epilepsy (Cochrane review). Q: Library Cochrane, 1.2001. Oxford: Update Software.
108. Leal V., Denise M. Adipokines in obesity. Clinica Chimica Actahttp://www.sciencedirect.com/science/journal/00098981/419/supp/C, 2013; 419: 87–94

109. Legro R. Polycystic ovary syndrome: current and future treatment paradigms. American Journal of Obstetic Gynecology 1998; 179: 101-108.

110. Leppik I. Zonisamide. Epilepsia 1999; 40 (5): 23-29.

111. Leppik I., Willmore L., Homan R. et al. Efficacy and safety of Zonisamide: results of a multicenter study. Epilepsy Research 1993; 14: 73-165.

112. Levinson D., Devinsky O. Psychiatric adverse events during vigabatrin therapy. Neurology 1999; 53: 1503-11.

113. Liu JY, Thom M, Catarino CB, Martinian L, Figarella-Branger D, Bartolomei F, Koepp M, Sisodiya SM. Neuropathology of the Blood-Brain Barrier and Pharmaco-Resistance in Human Epilepsy.Epilepsy Curr. 2013; 13(4): 169–171.

114. Loos RJ Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. Best Practical Research in Clinical Endocrinology and Metabolism. 2012; 26(2): 211-26.

115. Campos M. , Ayres L., Morelo M., Marques F., Pereira L. Efficacy and Tolerability of Antiepileptic Drugs in Patients with Focal Epilepsy: Systematic Review and Network Meta-analyses Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy , 2016; 36 (12): 1255-1271

116. Massie B. M. Obesity and heart failure — risk factor or mechanism; New English Journal of Medicine, 2002; 347: 358–359.

117. Mattson R., Cramer J., Collins J. et al. Compare carbamazepine, phenobarbital, phenytoin and primidone in partial and secondarily generalized tonic-clonic seizures. New English Journal of Medicine, 1985; 313: 145-51.

118. McCormack J., Halestrap A., Denton R. Role of calcium ions in regulation of mammalian intramitochondrial metabolism. Physiology Review. 1997; 70(2): 391-425.

119. Mechanick J., Casey M. Anti-Obesity Agents and the US Food and Drug Administration., 2014; 3(3): 361-7

120. Miller L., Galioto R., Tremont G., Davis J., Bryant K., Roth J., LaFrance W., Blum A. Cognitive impairment in older adults with epilepsy: Characterization and risk factor analysis. Epilepsy and Behavior. 2016; 56: 113-7.

121. Miller N., Johnson M., Paul S. et al. Visual breakthrough in patients receiving vigabatrin: clinical and electrophysiologic findings. Neurology 1999; 53: 2082-7.

122. Miyazaki Y., Matsuda M., DeFronzo R. A. Dose-response effect of pioglitazone on insulin sensitivity and insulin secretion in type 2 diabetes. Diabetes Care, 2002; 25: 517–523.

123. Morrell M., Guldner G. Arousability sexual response and sexual function in women with epilepsy. Epilepsia 1996; 37: 1204-10.

124. Morrell M. New antiepileptic drugs and women: effectiveness, reproductive health, pregnancy and fetal outcome. Epilepsia 1996; 37 (6): 34-44

125. Murali B., Upadhyaya U., Goyal R. Effect of chronic treatment with Enicostemma littorale in non-insulin-dependent diabetic Journal Ethnopharmacology. 2002; 81(2): 199-204.

126. Nielsen O., Johannessen A., Bardrum River. Oxcarbazepine induced such as snapshot survey. Epilepsy RES 1988; 2: 269-71.

127. Niketić V., Ristić S., Saicić Z., Spasić M., Buzadzić B., Stojković M. Activities of antioxidant enzymes and formation of the glutathione

adduct of hemoglobin (Hb ASSG) in epileptic patients with long-term antiepileptic therapy. Farmaco. 1995; 50(11): 811-3.

128. Nolan S., Marson A., Weston J., Tudur C. Carbamazepine versus phenytoin monotherapy for epilepsy: an individual participant data review.Cochrane Database Systematic Review. 2015; (8):CD001911

129. Nolan S., Muller M., Tudur C., Marson A. Oxcarbazepine versus phenytoin monotherapy for epilepsy.Cochrane Database Syst Rev. 2013;5: CD003615

130. Nousiainen I., Mantyjarvi M. Visual function in patients previously treated with anticonvulsants GABAergic drugs tiagabine. Clinical Drug investiugation 2000; 6 (6).

131. Otusbo S., Huruzono T., Kobae H. et al., Pancreatitis with normal serum amylase associated with sodium valproate: a report of the case. Brain Dev 1995; 17: 219-21.

132. Package A., Morrell M. The adverse effects of antiepileptic drugs on bone structure: epidemiology, mechanisms and therapeutic implications. 2008; 10: 12.

133. Panayiotopoulos C. The educational kit on epilepsies The epileptic syndromes, 2008

134. Patterson R.,Miller M., Kaplan M. et al. Effectiveness of early treatment with coritcosteroids in Stevens - Johnson syndrome: experience with 41 cases and hypothesis on the pathogenesis. An anti 1994; 73: 27-34.

135. Pellock JM. Felbamate. Epilepsia 1999; 40(5): 57-62.

136. Pellock J. View lamotrigine and new antiepileptic drugs: a challenge. Journal Children Neurology 1997; 12 (1): 48-52.

137. Perez-Campo R., López-Torres M., Cadenas S., Rojas C., Barja G.The rate of free radical production as a determinant of the rate of

aging: evidence from the comparative approach. J Comp Physiol B. 1998; 168(3): 149-58.

138. Perucca E., Avanzini G., Dulac O. Antiepileptic drugs as a cause of worsening seizures. Epilepsia 1998; 39: 5-17.

139. Pluskiewicz W., Nowakowska J. Bone status after long-term anticonvulsant therapy in patients with epilepsy: assessment using quantitative ultrasound of the calcaneus and phalanges. Ultrasound copper Biology 1997; 23: 553-8.

140. Pohlmann-Eden The puzzle(s) of pharmacoresistant epilepsy. Epilepsia 2013; 54(2): 1–4

141. Poon H., Calabrese V., Scapagnini G., Butterfield D. Free radicals and brain aging. Clinics in Geriatric Medicine. 2004; 20(2): 329-59.

142. Praveen S. Sandhya M., Peeyush A., Sandeep M. Oxidative stress in metabolic syndrome. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2005; 20(1): 145–149

143. Ragucci H., Cohen J. Gabapentin induced hypersensitivity syndrome. Clinical Neuropharmacology. 2001; 24: 103-5.

144. Rakitin A., Kõks S., Haldre S. Metabolic syndrome and anticonvulsants: A comparative study of valproic acid and carbamazepine.Seizure. 2016; 38:11-6

145. Ray C., Pye H., Boggild M. Hypersensitivity to carbamazepine performance with leukemoid reaction, eosinophilia, erythroderma and founded failure. Neurology 1989; 39: 436-8.

146. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes 1988; 37: 1595–1607

147. Richard B., Asnani S., Desouza C., Fonseca V. Is weight gain invevitable with thiazolidinedione? Experience with very low calorie diets Diabetes. 2002. 51: 609.

148. Rogiers V., Vandenberghe Y., Vercruysse A. Inhibition of gluconeogenesis by sodium valproate and its metabolites in isolated rat hepatocytes.Xenobiotica. 1985;15(8-9):759-65.

149. Roujeau J., Stern R. Serious adverse skin reactions to drugs. New English Journal of Medicine. 1994; 331: 1272-85.

150. Rzany B., Correia O., Kelly J. et al. Risk of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis, which during the first week of antiepileptic therapy: case control study. Research Group on International case control study of severe cutaneous adverse reactions. Lancet. 1999; 353: 2190-4.

151. Sano J., Kawada H., Yamaguchi N. et al. Effect of phenytoin serum gamma-glutamyl transpeptidase activity. Epilepsia 1981; 22: 331-38.

152. Scahpel G., Chadwick D. Tiagabine and epileptic nonconvulsive status. Seizure. 1996; 5: 153-6.

153. Schachter S. The next wave of anticonvulsants: Focus on oxcarbazepine, levetiracetam and Zonisamide. CNS drugs. 2000; 14: 229-49.

154. Schlienger R., Shapiro L., Shear N. Lamotrigine induced severe cutaneous adverse reactions. Epilepsia. 1998; 39: 22-26.

155. Schmidt D., Kramer G. New anticonvulsant drugs. Consequences to avoid adverse effects. Drug Safety. 1994; 11: 422-31.

156. Schulpis K., Lazaropoulou C., Regoutas S., Karikas G., Margeli A., Tsakiris S., Papassotiriou I.Valproic acid monotherapy induces DNA oxidative damage.Toxicology. 2006; 217(2-3): 228-32.

157. Schumberger E., Chavez F., Palacios L. et al., Lamotrigine treatment of 120 children with epilepsy. Epilepsia. 1994; 35: 359-67.

158. Shane-McWhorter L., Cerveny J., McFarlane L. Osborn C. Enhanced metabolism of levonorgestrel during Phenobarbital treatmentand resulting pregnancy. Pharmacotherapy. 1998; 18: 1360-4.

159. Shih J., Ochoa J. A systematic review of antiepileptic drug initiation and withdrawal.Neurologist. 2009; 15(3): 122-31

160. Shorvon S. Safety topiramate: adverse events and connections for dosing. Epilepsia. 1996; 37:18-22.

161. Shuttleworth S., Bailey S., Townsend P. Histone Deacetylase inhibitors: new promise in the treatment of immune and inflammatory diseases. Current Drug Targets. 2010 Nov;11(11):1430-8.

162. Silverman A., Fairley J., Wong R. Skin and immunological reactions to phenytoin. Journal American Academy Dermatology. 1988; 18: 721-41.

163. Spielberg S., Gordon G., Blake D. et al. Predisposition to phenytoin hepatotoxicity evaluated in vitro. New English Journal of Medicine. 1981; 305: 722-7.

164. Stoffel-Wagner B., Bauer J., Flugel D. et al. If serum sex hormones are altered in patients with chronic temporal epilepsy receiving anticonvulsant drugs. Epilepsia. 1998; 39: 1164-73.

165. Surks M., De Fesi A. Normal serum concentrations of free thyroid hormone in patients previously treated with phenytoin and carbamazepine. Paradox solved. JAMA. 1996; 275: 1495-8.

166. Swords A. Newer anticonvulsants: a comparative review of drug interactions and adverse effects. Drugs 2000; 60: 23-33.

167. Swords A., Gram l. Newer anticonvulsants: a comparative review of drug interactions and adverse effects. Drugs 2000; 60: 23-33.

168. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas.Physiological Research. 2001; 50(6): 537-46.

169. Tanaka E. Clinically significant pharmacokinetic drug interactions between antiepileptic medications. Journal of Clinical Pharmaceutical Therapy. 1999; 24: 87-92.

170. Tavenor S., Wang I., Newton R. et al. Challenge with lamotrigine after initial rash. Seizure. 1995; 4: 67-71.

171. Taylor J., Murphy M., Rivey M. Clinical and electrophysiologic assessment of the function of peripheral nerves in chronic phenytoin therapy. Epilepsia. 1985; 26: 416-20.

172. Temkin N., Dikmen S., Anderson G. et al. Valproate therapy for the prevention of posttraumatic seizures: a randomized trial. Neurosurgery. 1999; 91: 593-600.

173. Tettenborn B., Krämer G. Total patient care in epilepsy. Epilepsia. 1992; 3 (1):S28-32.

174. Tettenborn B. Management of epilepsy in women of childbearing age: practical recommendations. CNS Drugs. 2006;20(5):373-87.

175. Tierney F., Cadwell L., Thompson J., Boyle P., Paxon L., Moum K., Engelgau M. Reductions in excess mortality rates among people with diabetes by selected cause of death. Journal Diabetes Complications, 2008.

176. Tohen M., Castillo J., Baldessarini R. et al. Blood dyscrasias with carbamazepine and valproate: pharmaco-epidemiological study of 2228 patients at risk. American Journal of Psychiatry. 1995; 152: 413-8.

177. Valensi P. All in one. Monde Moderne (France). 2004: 71–110, 184–209.

178. Val-Laillet D., Aarts E., Weber B., Ferrari E., Quaresima, Stoeckkel et al. Neuroimaging and neuromodulation approaches to study eating behavior and prevent and treat eating disorders and obesity. Neuroimage Clinics. 2015; 8: 1–31

179. Van Amelsvoort T., Perks R., Devaux C., Schwabe S. Associated with carbamazepine and oxcarbazepine therapy: a review. Epilepsia. 1994; 35: 181-8.

180. Van Dijkman S., Alvarez-Jimenez R., Danhof M., Della Pasqua O. Pharmacotherapy in paediatric epilepsy: from trial and error to rational drug and dose selection – a long way to go. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. **2016; 12(10)**

181. Visscher T., Rissanen A., Seidell S. et al. Obesity and unhealthy life-years in adult finns. An empirical approach. Archive Internal Medicine. 2004; 164: 1413–1420.

182. Vittorio C., Muglia J. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome. Archive Internal honey. 1995; 155: 2285-93.

183. Wallace S. Comparative review of the adverse effects of anticonvulsants in children with epilepsy. Drug Safety. 1996; 15: 378-93.

184. Wallace S. Newer antiepileptic drugs: advantages and disadvantages. Brain Development. 2009; 23: 277-83.

185. Wild J., Martinez C., Harding Reinshagen F. Features a unique visual field defect of vigabatrin. Epilepsia. 1999; 40: 1784-94.

186. Wong I., Lhatoo S. Adverse reactions to new anticonvulsant drugs. Drug Safety. 2000; 23: 35-56.

187. Wong I., Mawer G., Sander J. Adverse Event Monitoring lamotrigine patients: study in pharmacoepidemiologic in the UK. Epilepsia 2001; 42: 237-44.

188. Wong I., Mawer G., Sander J. Factors influencing the data of lamotrigine, associated with skin rashes. Annual Pharmacotherapy 1999; 33: 1037-42.

189. Xing-kang He, Ting-ting Su, Jian-min Si, and Lei-min Sun. Metformin Is Associated With Slightly Reduced Risk of Colorectal Cancer and Moderate Survival Benefits in Diabetes Mellitus. Medicine (Baltimore). 2016; 95(7): 2749.

190. Yagi K., Seino M. Methodological requirements for clinical trials in refractory epilepsies our experience with Zonisamide. Progressive Neuropsychopharmacology Biology Psychiatry. 1992; 16: 79-85.

191. Yanai S., Hanai T., Narazaki O. Treatment of cerebral palsy spasms with Zonisamide. Brain Development. 1999; 21: 157-61.

192. Yasam V., Jakki S., Senthil V., Eswaramoorthy M., Shanmuganathan S., Arjunan K., Nanjan M. A pharmacological overview of lamotrigine for the treatment of epilepsy. Expert Review of Clinical Pharmacology. 2016; 9(12): 1533-1546

193. Zaccara G.,Paganini M., Campostrini R. et al. Effects related antiepileptic treatment of valproate-induced hyperammonemia. Therapy Drug Track 1985; 7: 185-90.

194. Zhou W., Zhang F., Ye C., Li G., Ding W., , Zhu H., Chen G., Luo T., Guang M., Liu Y., Zhang D., Zheng S., Yang J., Gu Y., Xie X., Luo M. The rat model of type 2 diabetic mellitus and its glycometabolism characters.Experimental Animals. 2003; 52(5): 401-7.

195. Zupanc M., Veenstra A., Riley J., Barrett L., Muhonen M., Romain J., Lin J., Mucci G. The impact of bilingualism on working memory in pediatric epilepsy. Epilepsy Behavior. 2016; 55:6-10.

ПРИНОСИ:

А) Теоретични:

1. За първи път е проведено сравнително проучване на три антиепилептични фармакологични средства (валпроева киселина, карбамазепин и топирамат) за влияние върху показатели на метаболизъм на мъжки и женски плъхове в период на растеж.

2. За първи път се доказват ефектите на топирамат върху мозъчни катехоламини на плъхове с или без затлъстяване. Топирамат променя плазмените нива на лептин, което се съобщава за първи път в литературата.

3. За първи път се установяват метаболитни промени в потомството на плъхове, третирани с топирамат и карбамазепин по време на бременността.

4. За първи път се съобщава за влияние на топирамат върху свободни радикали в кръв на неполовозрели растящи плъхове. Установена е про-оксидантна активност на топирамат.

Б) Практически приноси

5. Представен е експериментален модел на затлъстяване на неполовозрели плъхове за целите на фармакологичните изследвания.

6. Нови факти за фармакодинамиката на три фармакологични антиепилептични средства допълват информацията за тях за целите на експерименталната и клинична медицина.

7. Установените за първи път промени в показатели на метаболизъм на потомството под влияние на пренатално третиране с топирамат и карбамазепин поставя риска за бременните и посочените антиепилептични лекарства. В допълнение, с практическа значимост е да се търси употребата, дори еднократна на посочените лекарствени

продукти в изясняване на механизмите на метаболитни нарушения в потомството с цел ранна профилактика.

Списък на публикацииите на асистент Радослав Клисуров

Общ брой публикувани статии и доклади = 9

От тях 4 публикации в научни списания, от които 2 са в списания с Импакт фактор Общ брой доклади на международни конгреси – 5

1. Варадинова М, Клисуров Р, Бояджиева Н. Роля на бета-ендорфин при епилепсия, Topmedica 2014/04; 42 – 44.
2. Darlenska H, Klisurov R Effect of topiramate on noradrenaline expression in the brain of dietary-induced obese rats (preliminary data) Comptes rendus de l'Acad´emie bulgare des Sciences Tome 69, No 2, 2016. IF= 0.323
3. Boyadjieva Nadka and Klisurov R. Effect of topiramate and carbamazepin on insulin, leptin and metabolism of obese male rats. Journal of Clinical & Experimental Pharmacology, 2016; Journal Impact Factor 1.75 (в подготовка за печат)
4. Дърленска –Ханджиева Т., Р. Клисуров, Н. Бояджиева. Нови данни за Антиепилептичното лекарство Топирамат. Неврология и Психиатрия, том 46, кн. 1, 2015, стр. 43-56.

Доклади на 5 международни конгреси

Участия в конференции:

1. Клисуров Р, Бояджиева Н Влияние на антиепилептичните лекарства върху нивата на катехоламините в мозък на лабораторни животни -– научна конференция „Дръзновение и младост във фармакологията“ Медицински университет Пловдив Цигов чарк, 7-9 октомври, 2016 г.
2. Klisurov R., Handjieva-Darlenska T., Boyadjieva N. The effect of Topiramate on rats with experimental model of obesity 14th International symposium „Acad. Tasho tashev” BASORD
3. Klisurov R., Boyadjieva N The effect of Topiramate on biogenic amines in the brain of rats with experimental model of obesity 14th International symposium „Acad. Tasho tashev” BASORD
4. Klisurov R., Kamenova K., Boyadjieva N Effect of Topiramate on Leptin and Insulin of Rats with Experimental Obesity. First National Congress of the BSNCH with International Participation 2015
5. Klisurov R., Boyadjieva N. Effect of Topiramate on Free Radicals of Rats with Experimental Obesity. First National Congress of the BSNCH with International Participation 2015