

В. В. Цивунін

Низькодозовий дигоксин та його комбінація з вальпроатом натрію: центральні, аналгетичний та антигіпоксичний ефекти

*Національний фармацевтичний університет,
м. Харків*

Ключові слова: дигоксин, вальпроат, комбінація, центральні ефекти, аналгезія, гіпоксія

Значна поширеність епілепсії в Україні та світі, високий відсоток поліфармакорезистентних пацієнтів, соціальна стигматизація хворих, зростання економічного тягаря, пов'язаного з лікуванням – усе це спонукає до пошуку нових, ефективніших форм контролю за захворюванням, насамперед за рахунок оптимізації фармакотерапії [1–3]. Перспективним шляхом поліпшення контролю епілепсії (особливо резистентних випадків) є використання фармакотерапевтичних схем, в яких до традиційних протиепілептичних засобів (ПЕЗ) додаються препарати з інших фармакологічних груп – так звані «non-antiepileptic» («непроти-епілептичні») засоби. До таких засобів можна віднести, зокрема, протизапальний засіб із унікальним механізмом дії – подвійний інгібітор ЦОГ-2/5-ЛОГ дарбуфелон, а також антиалергічний засіб із класу блокаторів лейкотрієнових рецепторів монтелукаст, для яких на додачу до власних помірних антиконвульсивних властивостей було доведено здатність посилювати протисудомний потенціал субефективних доз вальпроату натрію та карбамазепіну [4, 5]. Значно більшу доказову базу накопичено для іншого ад'юванта –

серцевого глікозиду дигоксину. Встановлено, що в низьких дозах, які не чинять впливу на міокард, дигоксин виявляє як власні протисудомні властивості, так і посилює антиконвульсивний потенціал субефективних доз класичних ПЕЗ: вальпроату натрію, карбамазепіну, ламотриджину, леветиретацетаму, топірамату, фенобарбіталу та клоназепаму [6–8].

Відкритим залишається питання супутніх видів фармакологічної активності дигоксину, зокрема й центральних. Традиційним ПЕЗ, окрім власне протисудомної дії, притаманні множинні нейротропні властивості – як позитивні (зокрема, нормотимічна, анксіолітична, центральна аналгезивна дія), так і негативні (сонливість, надмірна седація, брадифренія, депресія, екстрапірамідні розлади, транзиторні порушення м'язового тону та координації рухів тощо) [9–12]. Ризик розвитку небажаних реакцій – передусім центральних – зростає за одночасного використання декількох ПЕЗ, що зазвичай має місце в фармакотерапії рефрактерної епілепсії [2, 9, 12]. Оскільки дигоксин розглядається як перспективний ад'ювант традиційних ПЕЗ, важливо з'ясувати наслідки можливих міжлікарських взаємодій при введенні його до класичних схем фармакотерапії епілепсії. Особливо актуальним є дослідження центральних впливів (насамперед потенційної нейротоксичності) комбінації дигоксину з

вальпроатом натрію, що показала себе найефективнішою на більшості моделей експериментальних судом.

Значущим аспектом фармакодинаміки окремих ПЕЗ (але не вальпроату) є здатність виразно протидіяти нейропатичному болю [10]. Щодо дигоксину *per se* – наявні повідомлення як про аналгетичні властивості в тестах «гаряча пластина» та «оцтовокислі корчі» в мишей у дозі 0,2 мг/кг [13], так і про зменшення порога больової чутливості в тесті «гаряча пластина» у щурів у добовій дозі 40 мкг/кг [14]. Проте немає даних щодо впливу на больову чутливість комбінації низькодозового дигоксину з вальпроатом натрію.

Крім того, існує взаємозв'язок між епілепсією та гіпоксією. З одного боку, у судомному періоді спостерігається зниження дихальної активності через пригнічення дихального центру в довгастому мозку, до того ж гіперметаболізм мозку під час нападу маніфестується церебральною гіпоксією через локальне збільшення споживання кисню [15]. З іншого боку, гіпоксія сама по собі є фактором індукції судом через порушення інтрацеребрального балансу іонів і розвиток глутамат-індукованої ексайтотоксичності. Таким чином, епілептичні напади та гіпоксія створюють своєрідне патологічне коло, коли перебіг хвороби може виразно погіршитись за накопичення нейрональних ушкоджень [15, 16]. За таких умов важливо, аби протиепілептична терапія якщо й не протидіяла гіпоксії, то хоча б не сприяла її посиленню. Отже, важливо з'ясувати вплив дигоксину та його комбінації з вальпроатом за умов експериментальної гіпоксії.

Мета дослідження – з'ясування центральних, аналгезивних та антигіпоксичних властивостей низькодозо-

вого дигоксину та його комбінації з вальпроатом натрію.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 162 білих рандомбредних мишах-самцях масою 20–24 г. Тварин утримували у віварії Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води за умов постійної вологості 60 % та температури + 20–22 °С, співвідношення світлого та темного часу 12/12 год. Протокол дослідження гармонізовано з положеннями Гельсінської декларації щодо гуманного поводження з тваринами (2000 р.) та Директиви Ради Європейського Союзу щодо захисту тварин, які використовуються з науковою метою (2010 р.), та затверджено локальним комітетом з питань біоетики (протокол від 10.09.2020 № 3).

Наявність або відсутність нейротоксичних властивостей комбінації дигоксину з вальпроатом натрію досліджували в тестах «стрижень, що обертається» і «горизонтальна поперечина» [17, 18].

Тест «стрижень, що обертається», використовують для оцінки впливу препаратів на м'язовий тонус і координацію рухів тварин. Прилад являє собою горизонтально розташований дерев'яний стрижень діаметром 2 см, що за допомогою електромотора обертається навколо своєї осі з постійною швидкістю 10 обертів за 1 хв. Для запобігання зістрибування тварин стрижень піднято на висоту 50 см над поверхнею столу. Критерієм оцінки впливу препаратів на м'язовий тонус і координацію рухів обрано кількість мишей, що впали зі стрижня за визначені проміжки часу: до 30 с, а також до 1, 3 та 5 хв.

Тест «горизонтальна поперечина» призначений для оцінки впливу

досліджуваних засобів на м'язовий тонус і статичну витривалість. Для проведення тесту тварин підвішували за передні лапки до товстої проволочки, яку було розміщено на висоті 40 см від поверхні столу. Реєстрували максимальний час утримання мишей на поперечині з трьох спроб підвішування.

Для дослідження впливу на функціональний стан нервової системи, зокрема, тривожність і дослідницьку діяльність, використовували тест «темно-світла камера» (light/dark box) [19], в основі якого лежить природне прагнення мишей шукати захист у темних закритих місцях, уникаючи перебування на відкритому освітленому просторі. Сама камера являє собою прямокутний бокс, розділений на два рівні за площею квадратні компартменти. Один із компартментів – з кришкою – пофарбований із середини в чорний колір, інший відсік – без кришки – білого кольору. Між компартментами наявний невеликий отвір, що нагадує нірку. Тварин вміщували до відсіку, який був яскраво освітлений лампою денного світла, спиною до нірки. Протягом 3 хв реєстрували кількість повних переходів мишей між компартментами, неповні спроби переходу (заглядання в отвір), загальну тривалість перебування тварин у світлій і темній камерах, а також кількість вертикальних стійок, ґрумінгу, дефекацій (за кількістю фекальних болюсів), уринацій.

Для визначення впливу препаратів на больову чутливість використано тест «гаряча пластина». Тварин вміщували на розігріту до температури + 54 °C електронагрівальну поверхню приладу Hot/Cold Plate (Bioseb, USA) і реєстрували латентний період (ЛП) поведінкової відповіді на больову стимуляцію за облизуванням задньої

лапки – головний показник ноцицептивної реакції [20]. Крім того, як другорядні індикатори визначали кількість вертикальних стійок, стрибків, а також актів ґрумінгу, уринації та дефекації (фекальні болюси). Задля уникнення опіків за відсутності облизування задньої лапки максимальний час експозиції мишей на розігрітій поверхні складав не більше ніж 1 хв. Для таких тварин ЛП больової реакції приймався за 60 с. Результати аналізували як для всіх дослідних тварин (зокрема з високим порогом больової чутливості), так і окремо для мишей, чий час експозиції на пластині не перевищував 60 с.

Антигіпоксичні властивості оцінювали в тесті нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (гіпоксії замкненого простору), яку моделювали в мишей за допомогою гермокамер об'ємом 200 см³ [21, 22], а також за умов гострої гемічної гіпоксії, що спричинена внутрішньоочеревинним застосуванням натрію нітриту (субстанція) у дозі 200 мг/кг [22, 23]. Ефективність препаратів оцінювали за тривалістю життя тварин.

Перед дослідженнями мишей випадковим чином ділили на 4 експериментальні групи: 1) група контролю; 2) група вальпроату; 3) група дигоксину; 4) група комбінації дигоксин + вальпроат.

У тестах «стрижень, що обертається», «горизонтальна поперечина» та «темно-світла камера» використано 32 тварини, які виконували їх по чергово протягом одного дня за однакових зовнішніх умов. Тест «гаряча пластина» проводили на 50 тваринах. Для оцінки антигіпоксичних властивостей у кожному з двох тестів використовували по 40 мишей. Тварин ділили на експериментальні групи по 8–10 особин (20 – у групі контролю в тесті «гаряча пластина») мишей.

Вальпроат натрію (сироп «Депа-кін», Санофі-Авентіс, Франція) вводили тваринам у раніше встановленій субефективній дозі ($1/2 ED_{50}$) 150 мг/кг [6, 8] у шлунок за 30 хв до фармакологічних тестів. Дигоксин (розчин для ін'єкцій «Дигоксин», ДНЦЛЗ/Здоров'я, Україна) вводили в раніше визначеній [6–8] ефективній антиконвульсантній дозі 0,8 мг/кг ($1/10 LD_{50}$) підшкірно за 15–20 хв до експериментів. Миші групи контролю отримували внутрішньошлунково дистильовану воду в аналогічному об'ємі (0,1 мл/10 г ваги) та режимі введення.

Статистичну обробку результатів виконано з використанням пакета програм STATISTICA 12.0. Результати наведено у вигляді ($M \pm m$). Достовірність міжгрупових відмінностей оцінювали за параметричним t-критерієм Ст'юдента за умов нормального розподілу, непараметричним U-критерієм Манна-Вітні за його відсутності. Для оцінки відмінностей показників, що реєстрували в альтернативній формі (наявність або відсутність ознаки), використовували кутове перетво-

рення Фішера ф. Відмінності вважали достовірними за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати дослідження впливу дигоксину, вальпроату натрію та їхньої комбінації на тонус скелетних м'язів і координацію рухів у тесті «стрижень, що обертається» наведено в таблиці 1.

Встановлено, що ні класичний ПЕЗ і дигоксин *per se*, ні комбінація препаратів не чинять негативного впливу на м'язовий тонус і координацію рухів за кількістю експериментальних тварин, що впали зі стрижня до 30 с, 1 хв, 3 хв і 5 хв.

За результатами тесту «горизонтальна поперечина» (табл. 2) встановлено відсутність впливу вальпроату *per se* та його комбінації з дигоксином на м'язовий тонус і статичну витривалість, тоді як монотерапія дигоксином забезпечила збільшення часу утримання мишей на поперечині майже на 50 % щодо контрольних тварин.

Таким чином, відсутність міорелаксантних властивостей препаратів за результатом двох тестів вочевидь

Таблиця 1

М'язовий тонус і координація рухів мишей у тесті «стрижень, що обертається» за впливу дигоксину, вальпроату натрію та їхньої комбінації

Група (n = 8)	Кількість мишей, що впали зі стрижня			
	до 30 с	до 1 хв	до 3 хв	до 5 хв
Контроль	2 (25 %)	5 (62,5 %)	6 (75 %)	7 (87,5 %)
Вальпроат	3 (37,5 %)	5 (62,5 %)	7 (87,5 %)	8 (100 %)
Дигоксин	1 (12,5 %)	3 (37,5 %)	7 (87,5 %)	7 (87,5 %)
Дигоксин + вальпроат	3 (37,5 %)	4 (50 %)	7 (87,5 %)	8 (100 %)

Примітка. n – кількість тварин у кожній групі.

**М'язовий тонус і статична витривалість мишей
у тесті «горизонтальна поперечина» за впливу дигоксину,
вальпроату натрію та їхньої комбінації ($M \pm m$)**

Група (n = 8)	Час утримання на поперечині, с	Зміни щодо контролю, %
Контроль	14,63 ± 2,67	–
Вальпроат	14,38 ± 2,24	– 1,70
Дигоксин	21,88 ± 3,06	+ 49,56
Дигоксин + вальпроат	13,38 ± 2,24 [#]	– 8,54

Примітка. [#] $p < 0,05$ порівняно з дигоксином, n – кількість тварин у кожній групі.

можна вважати маркером нейробезпеки дигоксину та його комбінації з вальпроатом, оскільки негативний вплив на тонус скелетних м'язів і координацію рухів вважається однією з провідних ознак нейротоксичності [17, 18]. Водночас здатність дигоксину посилювати статичну витривалість є цінним проявом супутньої фармакодинаміки серцевого глікозиду в субкардіальній дозі та потребує подальшої верифікації в поглиблених дослідженнях.

Результати впливу вальпроату, дигоксину та їхньої комбінації на рівень тривожності та поведінкові реакції тварин наведено в таблиці 3. Встановлено відсутність статистичної значущості відмінностей переважної більшості досліджуваних показників у групах вальпроату, дигоксину та їхньої комбінації щодо контролю. Хоча вальпроат більш ніж утричі проти контролю збільшує кількість неповних спроб переходу, а також дещо редукує тривалість перебування тварин у світлій камері з пропорційним подовженням часу перебування в темному компартменті, ці відмінності не сягали рівня статистичної достовірності.

Дигоксин *per se* невірогідно щодо контролю збільшує кількість неповних спроб і повних переходів між камерами – у 2,7 і 1,3 разу відповідно, а також повністю позбуває вегетативні прояви емоційних реакцій (уринації – статистично значуще проти контролю). Крім того, дигоксин вірогідно щодо вальпроату зменшує кількість актів грумінгу – у 5,6 разу, що свідчить про меншу тривожність тварин на тлі серцевого глікозиду в низькій дозі. Комбінація дигоксину з вальпроатом виявляє слабку невірогідну тенденцію до подовження тривалості перебування гризунів у темній камері та відповідному зменшенні часу перебування у світлому компартменті порівняно з контролем, достовірно щодо монотерапії вальпроатом і дигоксином збільшує кількість стійок, а також значуще щодо вальпроату *per se* зменшує кількість актів грумінгу, що свідчить про певну активацію орієнтовно-дослідницької діяльності та редукцію тривожності.

Отже, відсутність виразних центральних впливів вальпроату та дигоксину *per se* та їхньої комбінації разом із відсутністю нейротоксичності

Таблиця 3

Показники тривожності та поведінкових реакцій мишей у тесті «темно-світла камера»
за впливу дигоксину, вальпроату натрію та їхньої комбінації ($M \pm m$)

Група (n = 8)	Неповні спроби переходу	Повні переходи	Тривалість перебування, с		Стійки	Болюси	Уринації	Грумінг
			світла камера	темна камера				
Контроль	1,13 ± 0,58	3,75 ± 1,51	111,5 ± 22,1	68,5 ± 22,1	4,63 ± 1,85	0,50 ± 0,27	0,50 ± 0,19	1,63 ± 0,68
Вальпроат	3,75 ± 1,36	4,0 ± 0,46	100,1 ± 11,1	79,9 ± 11,1	4,63 ± 1,03	0,25 ± 0,16	0,38 ± 0,26	2,13 ± 0,52
Дигоксин	3,0 ± 0,91	5,0 ± 0,53	108,0 ± 10,4	72,0 ± 10,4	3,0 ± 0,71	0 ± 0	0 ± 0*	0,38 ± 0,26^
Дигоксин + вальпроат	1,25 ± 0,56	4,38 ± 0,73	95,9 ± 17,7	84,1 ± 17,7	7,13 ± 0,95^, #	0 ± 0	0,50 ± 0,27	0,25 ± 0,25^^

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з контролем, ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,01$ порівняно з вальпроатом, # $p < 0,05$ порівняно з дигоксином, n – кількість тварин у кожній групі.

свідчить про сприятливий профіль безпеки сумісного застосування препаратів.

У таблиці 4 наведено результати вивчення впливу дигоксину, вальпроату та їхньої комбінації на больову чутливість у тесті «гаряча пластина» – узагальнені для всіх тварин (зокрема з високим порогом больової реакції) та окремо для мишей, чий час перебування на пластині до фіксації больової реакції за ЛПІ облизування задньої лапки не перевищував 60 с.

Аналіз результатів, узагальнених для всіх тварин (зокрема й із високим порогом ноцицептивної чутливості, що мали ЛПІ больової реакції понад 60 с), показує статистично значуще щодо контролю подовження часу до облизування задньої лапки тварин груп дигоксину та його комбінації з вальпроатом – у 1,6 та 1,5 разу відповідно ($p < 0,05$). Водночас на тлі комбінації спостерігали достовірне щодо дигоксину *per se* збільшення кількості активів ґрумінгу в 2,6 разу.

Аналогічний, але виразніший ефект спостерігається у вибірках тварин, чий ЛПІ не перевищував 60 с. Дигоксин *per se* і в комбінації з вальпроатом приблизно однаково подовжували ЛПІ больової реакції, вірогідно щодо контролю ($p < 0,01$) та вальпроату *per se* ($p < 0,05$), збільшуючи цей показник в 2,3 та 1,9 разу відповідно. Статистично значуще збільшення кількості активів ґрумінгу на тлі комбінації не лише щодо дигоксину *per se* (у 2,8 разу, $p < 0,05$), але й контролю (у 4 рази, $p < 0,01$) вочевидь свідчить про дискомфорт тварин, що потребує додаткового дослідження.

Наші результати підтверджують дані [13] про анальгетичні властивості дигоксину та демонструють, що вони зберігаються за комбінації з

вальпроатом, а вальпроату *per se* знеболювальна дія не притаманна. Результати дослідження [14] щодо проноцицептивних властивостей дигоксину не знайшли підтвердження. Не виключено, що це пояснюється дозозалежністю впливу серцевого глікозиду на больову чутливість: у [13] його застосовували в дозі 0,2 мг/кг (200 мкг/кг), у нашому дослідженні – 0,8 мг/кг (800 мкг/кг), а в роботі [14] – у значно нижчій дозі 40 мкг/кг.

За результатами експериментів на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (табл. 5) встановлено виразні антигіпоксичні властивості як дигоксину в субкардіотонічній дозі, так і його комбінації з класичним ПЕЗ.

Серцевий глікозид *per se* в умовах гіпоксії замкненого простору статистично значуще ($p < 0,05$) подовжує тривалість життя тварин щодо контролю та вальпроату на 21,40 і 23,15 % відповідно, тоді як комбінація – високо достовірно ($p < 0,01$) – на 30,35 та 32,22 % відповідно.

На відміну від гіпоксії замкненого простору ні дигоксин, ні його комбінація з вальпроатом не чинять впливу на тривалість життя мишей із гемічною гіпоксією (табл. 6).

Таким чином, як низькодозовий дигоксин *per se*, так і його комбінація з вальпроатом натрію демонструють сприятливий профіль центральної дії: на додачу до встановлених раніше антиконвульсивних властивостей доведено відсутність нейротоксичної дії цих засобів – негативного впливу на тонус скелетних м'язів і координацію рухів, а також статичну витривалість, тривожність і поведінку тварин. Водночас на тлі сумісного застосування серцевого глікозиду з класичним ПЕЗ зберігається знеболювальний ефект дигоксину. Як уже

Таблиця 4

Больова чутливість й інші поведінкові показники мишей у тесті «гаряча пластина» за впливу дигоксину, вальпроату та їхньої комбінації ($M \pm m$)

Група	Латентний час облизування задньої лапки, с	Стійки	Стрибки	Грумінг	Уринації	Болюси
Узагальнені результати всіх тварин						
Контроль (n = 20)	25,45 ± 4,68	2,30 ± 0,38	5,10 ± 1,90	1,30 ± 0,38	0,05 ± 0,05	0,25 ± 0,12
Вальпроат (n = 10)	29,70 ± 6,91	2,0 ± 0,49	5,60 ± 2,93	1,20 ± 0,55	0 ± 0	0 ± 0
Дигоксин (n = 10)	40,70 ± 5,71*	3,30 ± 1,15	5,70 ± 2,33	0,90 ± 0,28	0 ± 0	0 ± 0
Дигоксин + вальпроат (n = 10)	37,40 ± 4,90*	3,80 ± 1,27	1,40 ± 0,88	2,30 ± 0,50#	0 ± 0	0,30 ± 0,21
Результати тварин, латентний час ноцицептивної реакції яких не перевищував 60 с						
Контроль (n = 15)	13,93 ± 1,34	2,0 ± 0,46	0,47 ± 0,35	0,60 ± 0,16	0,07 ± 0,07	0,13 ± 0,09
Вальпроат (n = 7)	16,71 ± 2,96	2,29 ± 0,68	0 ± 0	1,71 ± 0,71	0 ± 0	0 ± 0
Дигоксин (n = 7)	32,43 ± 5,65**, ^	2,29 ± 0,52	2,43 ± 1,32	0,86 ± 0,34	0 ± 0	0 ± 0
Дигоксин + вальпроат (n = 8)	31,75 ± 3,97**, ^	3,50 ± 1,48	1,75 ± 1,08^	2,38 ± 0,60**, #	0 ± 0	0 ± 0

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з контролем, ** $p < 0,01$ порівняно з контролем, ^ $p < 0,05$ порівняно з вальпроатом, # $p < 0,05$ порівняно з дигоксином, n – кількість тварин у кожній групі.

Таблиця 5

Тривалість життя мишей за умов нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією та впливу дигоксину, вальпроату та їхньої комбінації (M ± m)

Група (n = 10)	Тривалість життя, хв	Зміни щодо контролю, %
Контроль	13,41 ± 0,37	–
Вальпроат	13,22 ± 0,41	– 1,42
Дигоксин	16,28 ± 1,08*, ^	+ 21,40
Дигоксин + вальпроат	17,48 ± 1,34**, ^^	+ 30,35

Примітка. *p < 0,05, **p < 0,01 порівняно з контролем, ^p < 0,05, ^^p < 0,01 порівняно з вальпроатом, n – кількість тварин у кожній групі.

зазначено, у дослідженні [13] показано зменшення больової чутливості в тестах «гаряча пластина», відсмикування хвоста в мишей та «оцтовокислі корчі» в щурів під впливом дигоксину в дозі 0,2 мг/кг. Автори пов'язують такі ефекти серцевого глікозиду, як і протизапальні й антипиретичні властивості [13], зі здатністю інгібувати розчинну епоксидгідролазу (soluble epoxide hydrolase,

sEH) – ензим, який каталізує перетворення епоксидів арахідонової кислоти, що має поліфункціональну роль, зокрема в механізмах запалення та нейропротекції [24–26]. Не можна виключати також вплив дигоксину на церебральну Na⁺, K⁺-АТФазу, а отже на нейрональний баланс іонів Na⁺ та Ca²⁺ [27] і, як наслідок, на проведення больового імпульсу.

Таблиця 6

Тривалість життя мишей за умов гемічної гіпоксії та впливу дигоксину, вальпроату та їхньої комбінації (M ± m)

Група (n = 10)	Тривалість життя, хв	Зміни щодо контролю, %
Контроль	18,16 ± 0,66	–
Вальпроат	17,41 ± 0,72	– 4,13
Дигоксин	17,74 ± 0,95	– 2,31
Дигоксин + вальпроат	18,50 ± 0,61	+ 1,87

Примітка. n – кількість тварин у кожній групі.

Доведені антигіпоксичні властивості дигоксину відповідають раніше встановленому протиішемичному ефекту серцевих глікозидів на моделі інсульту [28] та можуть бути зумовлені інгібуванням індукованого гіпоксією фактора 1 α (hypoxia-inducible factor 1-alpha, HIF-1 α) [29]. Важливо, що вальпроат хоча й не протидіє гіпоксії *per se*, однак не заважає реалізації антигіпоксичного потенціалу дигоксину, що може підвищувати цінність такої комбінації в комплексній фармакотерапії епілепсії.

Отже, сумісне застосування низькодозового серцевого глікозиду дигоксину з класичним ПЕЗ вальпроатом натрію не лише має встановлені раніше переваги в контролі резистентних судом, але й характеризується безпекою в аспекті відсутності нейротоксичного впливу. Виявлено антигіпоксичний ефект дигоксину на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією, але не гемічної гіпоксії. Антигіпоксичні властивості можуть бути корисними для протисудомної дії. Також підтверджено наявність у дигоксину знеболювальних властивостей у тесті «гаряча пластина» та вперше показано, що сумісне застосування з вальпроатом не впливає на них.

Висновки

1. Досліджено центральні, анальгезивні й антигіпоксичні властивості низькодозового дигоксину та його комбінації з вальпроатом натрію.
2. Встановлено, що ні дигоксин *per se*, ні його комбінація з вальпроатом не чинять негативну дію на м'язовий тонус і координацію рухів тварин у тестах «стрижень», що обертається» та «горизонтальна поперечина», а також не мають виразного впливу на тривожність і поведінкові реакції мишей за умов тесту «темно-світла камера».
3. У тесті «гаряча пластина» підтверджено наявність у дигоксину виразних анальгезивних властивостей і вперше показано, що сумісне застосування з вальпроатом не впливає на знеболювальний потенціал серцевого глікозиду.
4. Встановлено, що дигоксину та його комбінації з вальпроатом притаманні виразні антигіпоксичні властивості на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією, але не гемічної гіпоксії.
5. Комплекс отриманих результатів дає підстави вважати сумісне застосування низькодозового дигоксину з вальпроатом натрію безпечним з точки зору центральних впливів, зокрема в комплексному лікуванні рефрактерної епілепсії.

1. Результати клініко-економічного аналізу фармакотерапії хворих на епілепсію. Н. В. Олейнікова та ін. *Фармацевтичний журнал*. 2022. Т. 77, № 3. С. 33–43.
2. Elkommos S., Mula M. Current and future pharmacotherapy options for drug-resistant epilepsy. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2022. V. 23. P. 2023–2034.
3. Drug resistance in epilepsy. E. Perucca et al. *Lancet Neurology*. 2023. V. 22. P. 723–734.
4. Цивунін В. В. Вивчення впливу дарбуфелону на антиконвульсивний потенціал класичних протіепілептичних засобів. *Фармацевтичний журнал*. 2024. Т. 79, № 6. С. 73–83.
5. Цивунін В. В. Вплив монтелукасту на антиконвульсивний потенціал класичних протіепілептичних засобів: експериментальне дослідження. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2025. Т. 19, № 2. С. 172–179.
6. Tsyvunin V., Shtrygol' S., Shtrygol' D. Digoxin enhances the effect of antiepileptic drugs with different mechanism of action in the pentylenetetrazole-induced seizures in mice. *Epilepsy Research*. 2020. V. 167. Art. 106465.
7. Digoxin potentiates the anticonvulsant effect of carbamazepine and lamotrigine against experimental seizures in mice. V. Tsyvunin et al. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021. V. 45, No. 3. P. 165–171.

8. Digoxin at sub-cardiotonic dose modulates the anticonvulsive potential of valproate, levetiracetam and topiramate in experimental primary generalized seizures. V. Tsyvunin et al. *Ceska a Slovenska Farmacie: Casopis Ceske Farmaceuticke Spolecnosti a Slovenske Farmaceuticke Spolecnosti*. 2022. V. 71, No. 2. P. 78–88.
9. Державний формуляр лікарських засобів. Шістнадцятий випуск [Електронний ресурс]. Наказ МОЗ України від 12.03.2024 № 418. Київ, 2024. 1235 с. URL: https://moz.gov.ua/uploads/10/54241-dn_418_12032024_dod.pdf.
10. Vajda F. J., Eadie M. J. The clinical pharmacology of traditional antiepileptic drugs. *Epileptic Disord*. 2014. V. 16, No. 4. P. 395–408.
11. Elucidating the potential side effects of current anti-seizure drugs for epilepsy. E. Akyüz et al. *Current neuropharmacology*. 2021. V. 19, No. 11. P. 1865–1883.
12. Adverse events related to antiepileptic drugs. Y. L. Dang et al. *Epilepsy & Behavior*. 2021. V. 115. Art. 107657.
13. Repurposing of digoxin in pain and inflammation: an evidence-based study. S. Patel et al. *Drug Development Research*. 2022. V. 83, No. 5. P. 1097–1110.
14. Castellanos J., Eblen-Zajjur A. Digoxine reduces thermal pain threshold and neuromuscular coordination in rats. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 2013. V. 32, No. 1. P. 16–19.
15. Xu Y. H., Fan Q. L. Relationship between chronic hypoxia and seizure susceptibility. *CNS neuroscience & therapeutics*. 2022. V. 28, No. 11. P. 1689–1705.
16. Ma Y., Wu Q. Intermittent hypoxia: linkage between OSAS and epilepsy. *Frontiers in Pharmacology*. 2023. V. 14. Art. 1230313.
17. Shan H. M., Maurer M. A., Schwab M. E. Four-parameter analysis in modified Rotarod test for detecting minor motor deficits in mice. *BMC biology*. 2023. V. 21, No. 1. Art. 177.
18. Deacon R. M. Measuring motor coordination in mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2013. V. 75. Art. e2609.
19. Exploring the light/dark box test: protocols and implications for neuroscience research. R. Campos-Cardoso et al. *Journal of Neuroscience Methods*. 2023. V. 384. Art. 109748.
20. Ядловський О. Є., Суворова З. С., Науменко М. В. Особливості застосування методу «Гаряча пластина» у фармакологічних дослідженнях. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, № 3. С. 177–184.
21. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек.; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ : ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
22. Подольський І. М. Експериментальне обґрунтування застосування 3-N-R,R'-амінометилзаміщених похідних хінолін-4-онів як психотропних засобів: дис. на здобуття наук. ступеня доктора фармац. наук. Нац. фармац. ун-т МОЗ України. Харків, 2021. 484 с.
23. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays; ed. H. G. Vogel. Berlin ; Heidelberg ; New York : Springer, 2008. 2071 p.
24. Shen H. C., Hammock B. D. Discovery of inhibitors of soluble epoxide hydrolase: a target with multiple potential therapeutic indications. *Journal of medicinal chemistry*. 2012. V. 55, No. 5. P. 1789–1808.
25. Shan J., Hashimoto K. Soluble epoxide hydrolase as a therapeutic target for neuropsychiatric disorders. *International journal of molecular sciences*. 2022. V. 23, No. 9. Art. 4951.
26. Kuo Y. M., Lee Y. H. Epoxyeicosatrienoic acids and soluble epoxide hydrolase in physiology and diseases of the central nervous system. *Journal of Physiological Investigation*. 2022. V. 65, No. 1. P. 1–11.
27. Effect of ouabain on calcium signaling in rodent brain: a systematic review of *in vitro* studies. J. A. Leite et al. *Frontiers in pharmacology*. 2022. V. 13. Art. 916312.
28. Cardiac glycosides provide neuroprotection against ischemic stroke: discovery by a brain slice-based compound screening platform. J. K. T. Wang et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006. V. 103, No. 27. P. 10461–10466.
29. Digoxin and other cardiac glycosides inhibit HIF-1 α synthesis and block tumor growth. H. Zhang et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008. V. 105, No. 50. P. 19579–19586.

В. В. Цивунін

Низькодозовий дигоксин та його комбінація з вальпроатом натрію: центральні, анагетичний та антигіпоксичний ефекти

Серцевий глікозид дигоксин у субкардіотонічній дозі є доведено ефективним ад'ювантом до класичних протиепілептичних засобів (ПЕЗ) у контролі судом, малочутливих до традиційної фармакотерапії. Проте нез'ясованим залишається питання супутніх фармакологічних властивостей низькодозового дигоксину, зокрема, його центральні ефекти, а також вплив на чутливість до болю та гіпоксії – як *per se*, так і в складі комбінації з класичним загальнозживаним ПЕЗ вальпроатом натрію.

Мета дослідження – з'ясування центральних, анагетичних та антигіпоксичних властивостей низькодозового дигоксину та його комбінації з вальпроатом натрію.

Дослідження проводили з використанням 162 білих мишей. Центральні властивості визначали в тестах «темно-світла камера», «стрижень, що обертається» та «горизонтальна перекладина». Анальгезивний потенціал оцінювали за допомогою тесту «гаряча пластина». Антигіпоксичні властивості досліджували в тестах нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (гіпоксії замкненого простору) та гемічної гіпоксії. Вальпроат натрію вводили внутрішньошлунково в дозі 150 мг/кг ($1/2$ ED₅₀) – за 30 хв до випробувань; дигоксин вводили у раніше визначеній ефективній антиконвульсантній дозі 0,8 мг/кг ($1/10$ LD₅₀) підшкірно – за 15–20 хв до експериментів.

Встановлено, що ні дигоксин *per se*, ні його комбінація з вальпроатом не чинять негативної дії на м'язовий тонус і координацію рухів тварин у тестах «стрижень, що обертається» та «горизонтальна поперечина». Відсутність міорелаксантих властивостей препаратів за результатом двох тестів можна вважати маркером нейробезпеки дигоксину та його комбінації з вальпроатом, оскільки негативний вплив на тонус скелетних м'язів і координацію рухів вважається однією з провідних ознак нейротоксичності. Визначено, що досліджувані препарати – як *per se*, так і в комбінації – також позбавлені виразного впливу на тривожність і поведінкові реакції мишей за умов тесту «темно-світла камера». У тесті «гаряча пластина» підтверджено наявність у дигоксину виразних анальгезивних властивостей і показано, що сумісне використання з вальпроатом не усуває знеболювальний потенціал серцевого глікозиду. Встановлено, що дигоксин та його комбінації з вальпроатом притаманні виразні антигіпоксичні властивості за умов нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією, але не гемічної гіпоксії.

Комплекс отриманих результатів є експериментальним обґрунтуванням безпеки сумісного застосування низькодозового дигоксину з вальпроатом натрію в аспекті центральних впливів, що може бути корисним у лікуванні рефрактерної епілепсії.

Ключові слова: дигоксин, вальпроат, комбінація, центральні ефекти, анальгезія, гіпоксія

V. V. Tsyvunin

Low-dose digoxin and its combination with sodium valproate: central, analgesic, and antihypoxic effects

The cardiac glycoside digoxin, at a sub-cardiotonic dose, has been proven to be an effective adjuvant to classical antiepileptic drugs (AEDs) in controlling seizures that are poorly responsive to conventional pharmacotherapy. However, the accompanying pharmacological properties of low-dose digoxin remain unclear, particularly its central effects, as well as its influence on pain and hypoxia sensitivity – both *per se* and in combination with the widely used AED sodium valproate.

The aim of the study was to investigate the central, analgesic, and antihypoxic properties of low-dose digoxin and its combination with sodium valproate.

Experiments were conducted on 162 albino mice. Central effects were assessed using the light/dark box test, the rotarod test, and the horizontal bar test. Analgesic potential was evaluated with the hot plate test. Antihypoxic properties were studied in models of normobaric hypoxic hypoxia with hypercapnia (closed-space hypoxia) and hemic hypoxia. Sodium valproate was administered intragastrically at 150 mg/kg ($1/2$ ED₅₀) 30 minutes prior to testing; digoxin was administered subcutaneously at a previously established effective anticonvulsant dose of 0.8 mg/kg ($1/10$ LD₅₀) 15–20 minutes before experiments.

It was found that neither digoxin *per se*, nor its combination with valproate produced adverse effects on muscle tone or motor coordination in the rotarod and horizontal bar tests. The absence of muscle relaxant activity in these tests may be considered a marker of the neuro-safety of digoxin and its combination with valproate, since impaired skeletal muscle tone and motor coordination are regarded as leading indicators of neurotoxicity. Furthermore, the tested drugs – both individually and in combination – exhibited no significant effects on anxiety or behavioral responses in the light/dark box test. In the hot plate test, digoxin demonstrated distinct analgesic properties, and its co-administration with valproate did not abolish the analgesic potential of the cardiac glycoside. Digoxin and its combination with valproate also displayed pronounced antihypoxic properties under conditions of normobaric hypoxic hypoxia with hypercapnia, but not under hemic hypoxia.

The results obtained provide experimental justification for the safety of combining low-dose digoxin with sodium valproate in terms of central effects, which may be beneficial in the treatment of refractory epilepsy.

Key words: digoxin, valproate, combination, central effects, analgesia, hypoxia

Надійшла: 18 липня 2025 р.

Прийнята до друку: 18 листопада 2025 р.

Контактна особа: Цивунін Вадим Володимирович, кандидат фармацевтичних наук, докторант, кафедра фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Григорія Сковороди, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 35 81.