

ПОНАШАЊЕ И ЕЛЕКТРОЕНЦЕФАЛОГРАФСКА ДЕЈСТВА ДЕЛТА ПЕПТИДА И ЊЕГОВОГ АНАЛОГА У ЗВУЧНОЈ ЕПИЛЕПСИЈИ ИЗАЗВАНОЈ МЕТАФИТОМ КОД ПАЦОВА

Оливера СТАНОЈЛОВИЋ¹, Драгана ЖИВАНОВИЋ¹,
Слободан МИРКОВИЋ^{1,2}, Данијела ВУЧЕВИЋ²

¹Институт за физиологију, Медицински факултет, Београд;

²Институт за патолошку физиологију, Медицински факултет, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Проучавана су дејства делта пептида спавања (*DSIP*) и његовог тетрапептидног аналога *DSIP*₁₋₄ (*Trp-Ala-Gly-Gly*) на звучну епилепсију изазвану метафитом 1-[1(3-изотиоцијанатофенил-циклохексил)-пиперидин]. Одрасли пацови вистар албино (*Wistar albino*) добијали су: 1) физиолошки раствор; 2) метафит; 3) метафит и *DSIP*; 4) метафит и *DSIP*₁₋₄ аналог. Пептид и аналог су примењени после осам звучних тестирања, када метафит развија највећу генерализовану звучну епилепсију. Звучно дражење је остварено помоћу електричног звона (100±3 dB, 60 s) на један сат за све време огледа. За хронично бележење ЕЕГ и спектарске снаге уграђене су три електроде у кортекс. Непосредно након примене метафита (10 mg/kg) на ЕЕГ налазу су уочени шилци и комплекси шилџак-таласа. Звучна епилепсија изазвана метафитом има највећу активност 8-10 часова после примене ове супстанце, а мерена је појавом, јачином и трајањем конвулзијских компоненти. Оба пептида – *DSIP* и *DSIP*₁₋₄ – значајно повећавају спектарску снагу делта таласа, смањују број конвулзијских одговора, посебно конвулзијску компоненту тонуса и средњу јачину конвулзије. Наши резултати указују на то да су *DSIP* и његов аналог *DSIP*₁₋₄ снажни анти-епилептици.

Кључне речи: метафит, звучна епилепсија, *DSIP*, *DSIP*₁₋₄, ЕЕГ

УВОД

Пре око педесет година откривен је други тип спавања – спавање са брзим очним покретима, или *REM (Rapid Eye Movements)* спавање [1]. Међутим, до данашњих дана двојна природа спавања и његове функције остају непознаница [2]. Монијер (*Monnier*) и сарадници [3] су издвојили делта пептид спавања (*DSIP*) из венске крви зечева код којих је спавање изазвано електричним дражењем једара таламуса. Спектар физиолошких функција овог пептида је широк, а пропратне појаве при парентералном давању су непознате [3, 4]. Синтетисано је око једанаест *DSIP* аналога, који су добијени структурним променама у ланцу пептида. На тај начин су појачана дејства природног пептида, па је сомногено дејство израженије применом синтетисаних окта и хепта аналога, док се променама пептидног ланца на местима 1, 2 и 6 повећава липофилност и отпорност на протеолизу [5]. *DSIP*₂ и *DSIP*₃ аналози мењају покретљивост и смањују епилепсијску активност [6].

У нашем огледу је коришћен тетрапептидни *DSIP*₁₋₄ аналог (*Trp-Ala-Gly-Gly*) или *N*-завршни део *DSIP* аналога. Метафит 1-[1(3-изотиоцијанатофенил-циклохексил)-пиперидин] је *PCP* аналог, од кога се разликује по изотиоцијанатној групи у *m*-положају ароматичног прстена [7]. Неповратно се везује за јонски канал *NMDA* рецепторског комплекса, повећава прилив Na^+ и Ca^{++} до критичне вредности деполаризације и изазива епилепсију код глодара [8, 9]. Системском применом метафита животиње које су биле отпорне на звучно дражење постале су осетљиве [8-11].

ЦИЉ РАДА

Циљ студије је био да испитамо да ли природни пептид *DSIP* и синтетски *DSIP*₁₋₄ аналог имају дејства на генерализовану рефлексну звучну епилепсију изазвану метафитом.

МЕТОД РАДА

У овом огледу коришћени су мужјаци пацова вистар албино (*Wistar albino*) стари 60 дана, телесне тежине 180-220 g, који су чувани појединачно у пластичним кавезима у просторији изолованој од звука. Температура у лабораторији је одржавана у опсегу од 22 до 24°C, док је период светло-тама одређен на 12 сати са светлим периодом 9-21 час. Звучно дражење животиња остварено је помоћу електричног звона (100 dB±0,3, у трајању од 60 секунди) у једночасовним размацима за све време огледа. За јачину звучне епилепсије коришћена је описна скала понашања [10, 11] од 0 до 3 (0 – без одговора; 1 – трчање; 2 – трчање и клонусна конвулзија; 3 – трчање и клонусно и тонусно опружање целог тела).

Ради хроничног бележења ЕЕГ и одређивања спектарске снаге, животињама су у анестетским условима (пентобарбитал од 40 mg/kg *i.p.*) уграђене електроде у фронталну, паријеталну и окципиталну кору великог мозга. Животиње су подељене у следеће групе: 1) контролна група која је добијала 0,14 M NaCl (n=6); 2) огледна група која је добијала метафит (n=12); 3) огледна група која је добијала метафит и *DSIP* (n=14); 4) огледна група која је добијала метафит и *DSIP*₁₋₄

аналог ($n=13$). Прва, друга и трећа група животиња добијале су метафит у дози од 10 mg/kg . У трећој и четвртој групи пептид и аналог су примењени у истој дози од 1 mg/kg после осам звучних дражења, тј. осам часова од примене метафита, када епилепсија изазвана метафитом развија највеће одговоре. Све коришћене супстанце су биле системски примењене у инјекцијској запремини од $0,1 \text{ ml}$.

За обраду ЕЕГ сигнала коришћен је одговарајући софтвер помоћу којег се ЕЕГ сигнали трајно и непрекидно бележе на диску рачунара. За статистичко поређење између група коришћена је Краскал-Волисова (*Kruskal-Wallis*) једнофакторска анализа варијансе (*ANOVA*), Ман-Витнијев (*Mann-Whitney*) *U*-тест и Фишеров (*Fisher*) тест вероватноће.

РЕЗУЛТАТИ

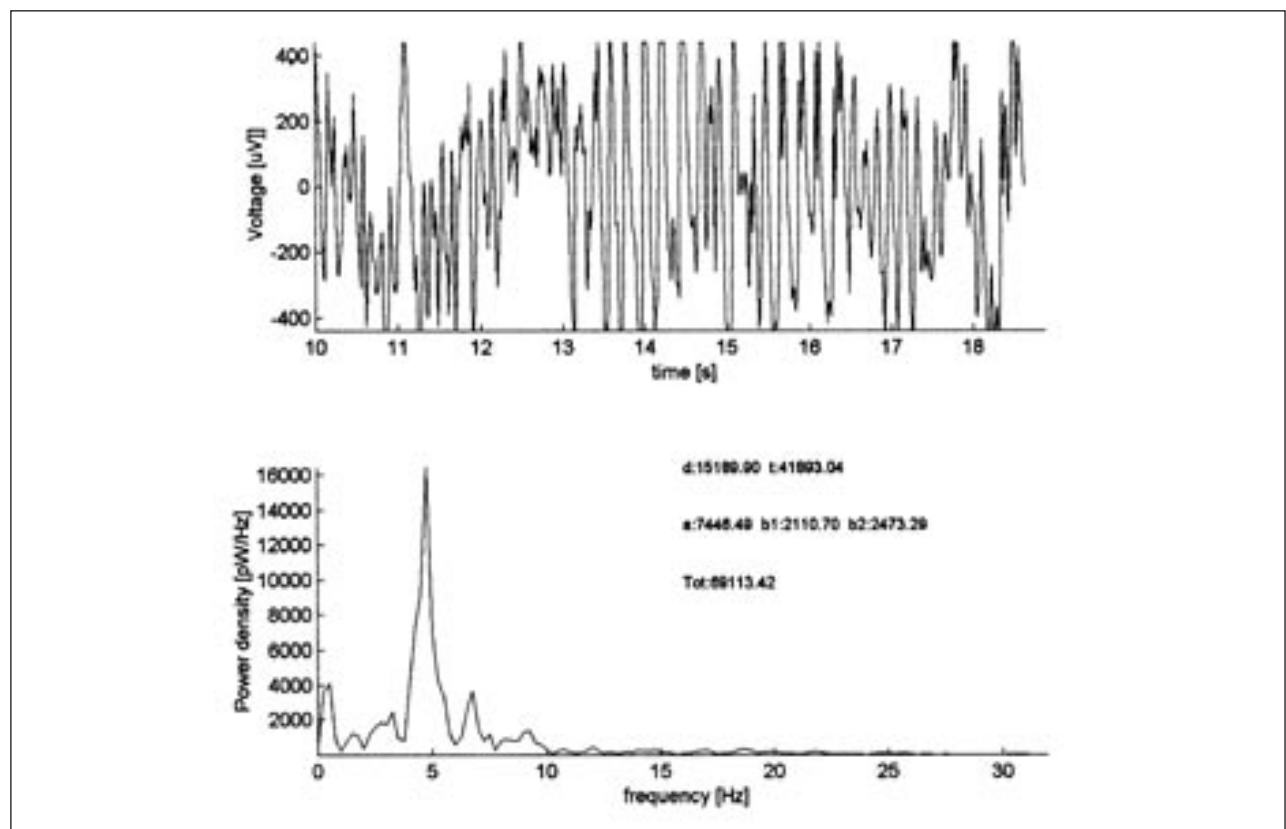
У контролној групи на звучно дражење нема налаза ЕЕГ, нити промене понашања.

У групи која је добијала метафит (10 mg/kg i.p.) после латентног периода, који представља време у секундама од почетка звучног дражења до испољавања прве компоненте (обично трчања), животиње одговарају понашањем узајамно повезаним са налазом ЕЕГ, које смо описали скалом понашања од 1 до 3. Спектарска снага ЕЕГ (pW/Hz) се повећава и постаје најјача у време звучног дражења. Врхунац конвулзиј-

ске активности, који се оцењује према броју и јачини одговора, догађа се 8-10 сати после примене метафита (Слика 1). Епилепсија престаје након 30 часова.

У групама животиња које су добијале метафит и *DSIP*, односно метафит и *DSIP*₁₋₄, у поређењу са групом која је добијала само метафит, после примене метафита у истим огледним тачкама долази до статистички значајних смањења конвулзијске компоненте трчања у следећим временима: 23 h ($p<0,05$), 24 h ($p<0,05$) и 25 h ($p<0,05$) (Табела 1). Број животиња које одговарају клонусном конвулзијском компонентом у групи која је добијала метафит и *DSIP* је значајно смањен у односу на групу која је добијала метафит 24 h ($p<0,05$) и 25 h ($p<0,05$) после примене метафита. Тонусна конвулзија као најјачи облик епилепсије изазване метафитом је значајно смањена после примене *DSIP* 19 h ($p<0,05$), 24 h ($p<0,05$) и 25 h ($p<0,05$), док је после примене *DSIP*₁₋₄ аналога број тонусних одговора смањен 20 h ($p<0,05$) и 25 h ($p<0,05$) након коришћења метафита.

Синтетисани *DSIP*₁₋₄ аналог значајније зауставља епилепсију изазвану метафитом у односу на природни *DSIP* пептид (метафит и *DSIP*, у односу на метафит и *DSIP*₁₋₄ (#)), што се види у смањењу свих компоненти. Број животиња који одговара конвулзијском компонентом трчањем је 11 h ($p<0,05$) и 12 h ($p<0,05$) после употребе метафита, а значајније је смањен у групи аналога, што се догађа и са тонусном компонентом 11 h ($p<0,05$) и 15 h ($p<0,05$), као и са средњом



СЛИКА 1. ЕЕГ запис потпуног епилепсијског одговора (ступањ 3) изазваног звучним дражењем ($100\pm 3 \text{ dB}$, 60 s) код пацова који су добијали метафит (10 mg/kg, i.p.). Треба запазити висок опсег и ниску учесталост истовремених шиљака (1-4 Hz) и одговарајућу повећану спектарску снагу. Временска вредност је 1 секунд, вредност опсега $200 \mu\text{V}$.

FIGURE 1. EEG record of complete motor seizure response (grade 3) induced by audiogenic stimulation ($100\pm 3 \text{ dB}$, 60 s) in metaphit-treated rat. Note a high amplitude and low-frequency synchronized spikes (1-4 Hz) and the corresponding power spectra increase during metaphit epilepsy. Time calibration of 1 sec, amplitude calibration of $200 \mu\text{V}$.

јачином епилепсије 11 h ($p < 0,05$) након коришћења метафита (Табеле 1 и 2). Трајање тонусне компоненте конвулзијског одговора приказано је у табели 3. Значајно смањење трајања тонусне компоненте уочено је 13 h после примене метафита у групи животиња које су добијале метафит и DSIP, односно у групи која је добијала метафит и DSIP₁₋₄ ($p < 0,01$), у односу на групу која је добијала само метафит.

ДИСКУСИЈА

Предмет нашег огледног рада је био да утврдимо дејства природног сомногеног делта пептида и његовог новодобијеног тетрапептидног аналога DSIP₁₋₄ после системске примене на развијену слику генера-

лизоване рефлексне епилепсије изазване метафитом код пацова. Добијени резултати показују да и пептид и аналог делују у истом смеру на епилепсију изазвану метафитом. Осим тога, они смањују појаву свих конвулзијских компоненти, као и средњу јачину конвулзије. Може се запазити да је дејство DSIP₁₋₄ у односу на DSIP, брже, јаче и трајније.

Нови (ломотригин) и стари (карбамазепин) антиепилепсијски лекови су осмишљени да онемогуће NMDA-AMPA рецепторе заустављањем Na⁺ зависних канала, спречавајући тиме ослобађање надражајне аминокиселине глутамата (која има критичну улогу у почињању и ширењу епилепсије) [12]. Компетитивни и некомпетитивни NMDA антагонисти имају врло непријатне пропратне појаве, као што су тровање, умирање, привиђање, поремећај психе, пореме-

ТАБЕЛА 1. Временски ток конвулзијских одговора изазваних метафитом и ометајуће дејство DSIP и DSIP₁₋₄ код пацова.
TABLE 1. Time course of metaphit-induced seizure components and blocking effects of DSIP and DSIP₁₋₄ in rats.

n / T (h)	трчање running			клонус clonus			тонус tonus		
	12 metaphit	14 metaphit + DSIP	13 metaphit + DSIP ₁₋₄	12 metaphit	14 metaphit + DSIP	13 metaphit + DSIP ₁₋₄	12 metaphit	14 metaphit + DSIP	13 metaphit + DSIP ₁₋₄
1	2	-	-	1	-	-	1	-	-
2	3	-	-	2	-	-	2	-	-
3	4	-	-	3	-	-	3	-	-
4	4	-	-	4	-	-	3	-	-
5	9	-	-	7	-	-	6	-	-
6	8	-	-	8	-	-	7	-	-
7	9	-	-	9	-	-	9	-	-
8	9	14	13	9	14	13	8	14	13
9	9	14	12	9	14	12	7	11	12
10	10	13	9	10	12	8	7	10	6
11	9	12	7#*	9	10	5	5	9	3#*
12	9	8	10#*	8	8	10	7	5	8
13	8	8	7	6	6	5	5	3	2
14	7	8	7	7	4	5	7	3	4
15	8	8	4	5	5	2	5	5	0#*
16	6	6	5	6	3	4	5	3	2
17	5	4	3	5	4	3	2	1	3
18	4	4	3	4	4	2	4	2	2
19	5	3	1	5	3	1	5	1†*	1
20	5	3	1	4	3	1	4	2	0‡*
21	3	3	1	2	3	1	2	2	1
22	3	2	1	3	2	1	3	2	1
23	4	0‡*	0‡*	3	0	1	3	0	1
24	4	0‡*	0‡*	4	0‡*	1	4	0‡*	1
25	5	0‡*	0‡*	4	0‡*	0‡*	4	0‡*	0‡*
26	3	0	0	3	0	0	3	0	0
27	2	0	0	2	0	0	2	0	0
28	2	0	0	2	0	0	2	0	0
29	3	0	0	3	0	0	3	0	0
30	1	0	0	1	0	0	1	0	0

n – број животиња; T – време после примене метафита; † – метафит у односу на метафит и DSIP; ‡ – метафит у односу на метафит и DSIP₁₋₄; # – метафит и DSIP у односу на метафит и DSIP₁₋₄; * $p < 0,05$

Животиње које су добијале метафит (10 mg/kg) после 8 h су добијале DSIP (1 mg/kg) и DSIP₁₋₄ (1 mg/kg) и биле изложене звучном дражењу (100±3 dB, 60 s) у једночасовним размацима. Поређење броја животиња између група урађено је помоћу Фишеровог теста тачне вероватноће.

n – number of animals; T – time after metaphit administration; † – metaphit vs. metaphit and DSIP; ‡ – metaphit vs. metaphit and DSIP₁₋₄; # – metaphit and DSIP vs. metaphit and DSIP₁₋₄; * $p < 0,05$

The rats treated with metaphit (10 mg/kg) were given DSIP (1 mg/kg) and DSIP₁₋₄ (1 mg/kg) 8 hours later and exposed to intense audiotimulation (100±3 dB, 60 s) at hourly intervals. Comparison of the number of rats convulsing was done by Fisher's exact probability test.

ТАБЕЛА 2. Временски ток напада средње јачине.
TABLE 2. Time course of mean seizure grade.

n / T (h)	12 metaphit	14 metaphit + DSIP	13 metaphit + DSIP ₁₋₄
1	0.33	-	-
2	0.58	-	-
3	0.92	-	-
4	1.00	-	-
5	1.83	-	-
6	1.92	-	-
7	2.25	-	-
8	2.00	3.00	3.00
9	1.92	2.79	2.77
10	2.25	2.50	1.77
11	1.92	2.21#**	1.15
12	2.00	1.21	2.15
13	1.58	1.21	1.08
14	1.75	1.07	1.23
15	1.50	1.29	0.46
16	1.42	0.86	0.85
17	1.25	0.64	0.69
18	1.25	0.71	0.54
19	1.50	0.50	0.23
20	1.33	0.57	0.15
21	0.83	0.57	0.23
22	0.92	0.43	0.23
23	0.92	0.00	0.00
24	1.17	0.00	0.00
25	1.08	0.00	0.00
26	0.75	0.00	0.00
27	0.50	0.00	0.00
28	0.50	0.00	0.00
29	0.75	0.00	0.00
30	0.17	0.00	0.00

– метафит и *DSIP* у односу на метафит и *DSIP*₁₋₄; * $p < 0,05$
Поређење средње јачине вршено је коришћењем Краскал–Волисове једнофакторске анализе (ANOVA) и Ман–Витнијевог *U*-теста.
– metaphit and DSIP vs. metaphit and DSIP₁₋₄; * $p < 0,05$
Comparison of mean seizure grade between groups was calculated by Kruskal–Wallis unifactorial ANOVA and Mann–Whitney *U*-test.

ћај усклађеног вршења активности мишића итд. [13]. Епилепсије могу настати услед неравнотеже између ширења и заустављања надражаја у централном нервном систему. С тим у вези, супстанце које успеју да овај однос врате у првобитно стање могле би бити делотворни антиепилептици. *DSIP* драматично мења концентрације неуротрансмитера, повећава концентрацију гама аминокиселине (*GABA*) и хомакарнозина и снижава концентрацију глутамата и аспартата [14, 15].

У прилог антиепилепсијској улози *DSIP* и његовог аналога могу се поменути подаци из литературе који указују на то да *DSIP* у већим дозама (1-3 mg/kg) смањује извођење покрета [16]. Милер (*Miller*) и сарадници [17] описују брже продирање аналога кроз крвномождану баријеру и њихово брже дејство. Међутим, неки аутори наводе да аналози повећавају праг за конвулзију [18].

Наши резултати су у сагласности с резултатима које су објавили Шандра (*Shandra*) и сарадници [19]

ТАБЕЛА 3. Трајање тонусне компоненте звучне епилепсије изазване метафитом и дејства *DSIP* и *DSIP*₁₋₄.

TABLE 3. Duration of tonic components of audiogenic seizure induced by metaphit and effects of *DSIP* and *DSIP*₁₋₄.

n / T (h)	12 metaphit	14 metaphit + DSIP	13 metaphit + DSIP ₁₋₄
1	10.0±0.0	-	-
2	15.0±5.0	-	-
3	13.3±3.3	-	-
4	8.3±1.7	-	-
5	12.5±3.6	-	-
6	10.7±1.3	-	-
7	13.3±1.7	-	-
8	10.6±1.1	15.0±0.0	15.0±0.0
9	15.7±2.8	15.0±0.0	15.0±0.0
10	12.9±2.1	15.0±0.0	15.0±0.0
11	16.0±1.9	13.3±1.2	15.0±0.0
12	12.1±1.0	15.0±0.0	15.0±0.0
13	18.0±3.4	15.0±0.0†*	15.0±0.0†*
14	10.0±2.2	15.0±0.0	15.0±0.0
15	13.0±4.1	12.0±2.0	--
16	13.0±3.4	15.0±0.0	15.0±0.0
17	17.5±7.5	15.0	15.0±0.0
18	13.0±3.4	15.0±0.0	15.0±0.0
19	10.8±2.0	15.0	15.0
20	13.0±1.2	15.0±0.0	--
21	18.3±6.0	15.0±0.0	15.0
22	10.0±2.9	15.0±0.0	15.0
23	10.0±0.0	15.0	10.0
24	12.5±2.5	15.0	0.0±0.0
25	12.5±2.5	0.0±0.0	0.0±0.0
26	26.7±3.3	0.0±0.0	0.0±0.0
27	25.0±5.0	0.0±0.0	0.0±0.0
28	20.0±1.0	0.0±0.0	0.0±0.0
29	10.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
30	10.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

† – метафит у односу на метафит и *DSIP*; ‡ – метафит у односу на метафит и *DSIP*₁₋₄; * $p < 0,01$

Мерени подаци су средње вредности и стандардна девијација изражени у секундама. Поређење средње вредности трајања урађено је помоћу Краскал–Волисовог теста ANOVA.

† – metaphit vs. metaphit and DSIP; ‡ – metaphit vs. metaphit and DSIP₁₋₄; * $p < 0,01$

Values are means and standard deviation expressed in seconds. Comparison of the mean duration of convulsive components was carried out by Kruskal–Wallis ANOVA test.

1998. године. Они описују неурозаштитну улогу *DSIP* на *NMDA* рецептору и смањење ослобађања глутаминске киселине из пресинаптичких завршетака. Ове промене указују на учешће пептида у унутрашњој контроли и довођење ширења и заустављања надражаја у повољан однос.

ЗАКЉУЧАК

Сви наведени подаци из литературе заједно с нашим резултатима упућују на то да *DSIP* и његов тетрапептидни аналог *DSIP*₁₋₄ представљају факторе унутрашње уравнотежене активности мозга и да испољавају антиепилепсијско дејство у генерализованој звучној епилепсији изазваној метафитом код пацова.

ЗАХВАЛНИЦА

Рад је финансирао Министарство за науку и технологију Србије (N-1943).

DSIP и његов аналог DSIP₁₋₄ су синтетисани на Медицинском институту Шемјакин у Русији и поклон су др И. И. Михалева. Метафит (метансулфонат) је производ америчке компаније (*Sigma-Aldrich Chemical Co., U.S.A.*) и поклон је др Рајт (*M.E.A. Reith*) из САД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aserinsky E, Kleitman N. Regularly occurring periods of eye motility and concurrent phenomena during sleep. *Science* 1953; 118:273-4.
2. Gamundi A, Gonzalez J, Akaarir M, et al. Dualism and uniformism in sleep. *Med Hypoth* 2003; 60:116-8.
3. Monnier M, Dudler J, Gachter R, Schoenenberger GA. Delta-sleep inducing peptide (DSIP): EEG and motor activity in rabbits following intravenous administration. *Neurosci Lett* 1977; 6:9-13.
4. Schoenenberger GA. Characterization, properties and multivariate functions of delta-sleep-inducing peptide (DSIP). *Eur Neurol* 1984; 23:321-45.
5. Prudchenko A, Stashevskaya LV, Mikhaleva II, et al. Synthesis and biological properties of new analogs of DSIP. Antiepileptic effect. *Bioorg Chem (Russian)* 1993; 19:43-55.
6. Shandra AA, Godlevskii LS, Vastianov RS, et al. The effect of intranigral use of the delta sleep inducing peptide and its analogs on the motor and seizure activities of rats. *Physiol J (Russian)* 1995; 81:1-6.
7. Rafferty RM, Mattson M, Jacobson AE, Rice KCA. Specific acylating agent for the [3H] phencyclidine receptors in rat brain. *FEBS Lett* 1985; 181:318-22.
8. Debler EA, Lipovac MN, Lajtha A, et al. Metaphit, an isothiocyanate analog of PCP, induces audiogenic seizures in mice. *Eur J Pharmacol* 1989; 165:155-9.
9. Šušić V, Reith MEA, Zloković B, et al. Electroencephalographic characteristics of audiogenic seizures induced in metaphit-treated small rodents. *Epilepsia* 1991; 32:783-9.
10. Stanojlović O, Živanović D, Šušić V. N-methyl-D-aspartic acid- and metaphit-induced audiogenic seizures in rat model of seizure. *Pharmacol Res* 2000; 42:247-53.
11. Stanojlović O, Živanović D, Šušić V. The effects of delta sleep-inducing peptide on incidence and severity in metaphit-induced epilepsy in rats. *Pharmacol Res* 2002; 45:241-7.
12. Meldrum BS. The role of glutamate in epilepsy and other CNS disorders. *Neurol* 1994; 44:14-23.
13. Sveinbjornsdottir S, Sander JW, Upton D, et al. The excitatory amino acid antagonist D-CPP-ene (SDZ EAA-494) in patients with epilepsy. *Epilepsy Res* 1993; 16:165-74.
14. Mendzheritskii AM, Uskova NI, Lysenko AV, Revinskii IV. The neuromediator mechanism of the additive action of the DSIP in experimental audiogenic epilepsy caused by hypokinesia. *Exp Clin Pharmacol (Russian)* 1996; 59:8-10.
15. Mendzheritskii AM, Lisenko AB, Uskova NI, Samecki EA. The mechanism of the anticonvulsive effect of the DSIP under condition of elevated oxygen pressures. *Physiol J (Russian)* 1996; 82:59-64.
16. Yehuda S, Kastin AJ, Coy H. Thermoregulatory and locomotor effects of DSIP: Paradoxical interaction with d-amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 1980; 13:895-900.
17. Miller, LH, Turnbull, A, Kastin, AJ, Coy, DH. Sleep-wave activity of a delta sleep inducing peptide analog correlates with its penetrance of the blood-brain barrier. *Sleep* 1986; 9:80-4.
18. Yehuda S, Mostofsky DI. Circadian effect of b-endorphin, melatonin, DSIP and amphetamine on pentylene tetrazole-induced seizures. *Peptides* 1993; 14:203-5.
19. Shandra AA, Godlevskii LS, Brusentsov AI, Karlyuga VA. Effect of delta sleep inducing peptide on NMDA-induced convulsive activity in rats. *Neurosci Behav Physiol* 1998; 28:694-7.

BEHAVIORAL AND ELECTROENCEPHALOGRAPHIC EFFECTS OF DELTA SLEEP INDUCING PEPTIDE AND ITS ANALOGUE ON METAPHIT-INDUCED AUDIOGENIC SEIZURES IN RATS

Olivera STANOJLOVIĆ¹, Dragana ŽIVANOVIĆ¹, Slobodan MIRKOVIĆ^{1,2}, Danijela VUČEVIĆ²

¹Department of Physiology, School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade;

²Department of Pathophysiology, School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade

INTRODUCTION

Delta sleep inducing peptide (DSIP) is well known natural somnogenic peptide that has many other physiological functions. DSIP analogues representing hepta- and octapeptides (also known as long) as well as tetrapeptide (termed short, used in our experiments) were synthesized with a view to evaluate the peptide specificity in sleep. The effects of DSIP and its analogue DSIP₁₋₄ on metaphit 1-[1(3-isothiocyanatophenyl)cyclohexyl]-piperidine induced audiogenic seizures were evaluated in rats.

METHODS

Male Wistar albino rats were divided into 4 groups: 1. Saline; 2. Metaphit; 3. Metaphit + DSIP, and 4. Metaphit + DSIP₁₋₄. To examine the blocking effects of DSIP and its analogue on fully developed metaphit seizures, the last two groups were injected after the 8th audiogenic testing. Animals were injected with metaphit (10 mg/kg) intraperitoneally (i.p.) and exposed to sound stimulation (100±3 dB, 60 s) at hourly intervals. The incidence and severity (running, clonus and tonus) of seizures were analyzed. For electroencephalographic (EEG) recordings, three gold-plated electrodes were used. Convulsive behavior was assessed by incidence of motor seizure and by seizure severity grade, determined by descriptive rating scale ranging from 0 to 3: 0 – no response, 1 – wild running only; 2 – wild running followed by clonic seizures of all four limbs with body roll-over; 3 – wild running progressing to generalized clonic convulsions followed by tonic extension of fore- and hind legs and tail. Sound onset, seizure events, and sound offset, along with the animal's behavior (convulsive or other) were characterized with EEG changes.

RESULTS

In most animals, the administration of metaphit resulted in electroencephalographic abnormalities, elicited epilepti-

form activity in the form of spikes, polyspikes and spike-wave complexes. Maximum incidence and severity of metaphit convulsions occurred 8 h after the injection (9/12, 75%), then abated gradually and disappeared 30 h later. Both DSIP and DSIP₁₋₄ significantly increased the power spectra of d waves and decreased the incidence of seizures, mean seizure grade and tonic component of metaphit-induced convulsions.

DISCUSSION

Metaphit has been shown to induce audiogenic seizures after systemic and intracerebroventricular administration and to be truly epileptic in small rodents [8-11], although about 8 h after metaphit administration, the power spectra increased and was more intense in the period of sound onset and seizure events. Taken together, DSIP makes an optimal ratio between inhibitory and excitatory amino acid neurotransmitters and may represent one of the endogenous control systems of the brain, thus exerting the protective effect against the seizures [14,15,19]. The results obtained throughout the present study corroborate and broaden the data on prolonged antiepileptic DSIP effect.

CONCLUSION

The results of the present study strongly suggest that treatment of adult rats with DSIP and its analogue DSIP₁₋₄ should be considered as potential natural antiepileptics.

Key words: metaphit, audiogenic seizures, DSIP, DSIP₁₋₄, EEG

Olivera STANOJLOVIĆ
Institut za fiziologiju
Medicinski fakultet
Višegradska 26/II, 11000 Beograd
Tel/faks: 011 361 19 45
E-mail: maxol@eunet.yu

* Рукопис је достављен Уредништву 11. 11. 2003. године.