

PIOTR WLAŹ, ZBIGNIEW ROLIŃSKI

Wpływ enrofloksacyny na przeciwdrgawkowe działanie diazepam

Katedra Farmakologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Summary

The influence of Enrofloxacin upon the anticonvulsant action of diazepam

Enrofloxacin, a fluoroquinolone derivative exhibiting a broad spectrum of antibacterial activity, is known to induce several adverse neurologic side effects, such as psychomotor excitation, restlessness in animals, and hallucinations in humans. These side effects are probably attributable to the impaired GABA-ergic neurotransmission. This prompted us to study the effects of acute administration of enrofloxacin upon the antiepileptic efficacy of diazepam, an agent acting through an enhancement of GABA-ergic transmission, in maximal electroshock-induced seizures in mice. All drugs were injected intraperitoneally at a volume of 10 ml/kg 60 min prior to the seizure test. A convulsive response, expressed as CC_{50} (defined by the lowest current intensity (in mA) necessary to produce the tonic hindlimb extension) was then determined. Enrofloxacin given alone in a dose of 50 mg/kg did not affect the seizure threshold as compared to the value obtained following saline treatment (11.6 mA and 12.0 mA, respectively). Administration of diazepam at a dose of 10 mg/kg resulted in a significant elevation of the seizure threshold, which reached 42.2 mA ($p \leq 0.05$ versus saline- or enrofloxacin-treated animals). However, when mice were given a combination of both drugs, the protective activity of diazepam was diminished, which was reflected by a significant decrease in the convulsive current (21.7 mA; $p \leq 0.05$ versus diazepam-treated mice). These data strongly suggest that the anticonvulsant properties of diazepam are reversed by concomitant treatment with enrofloxacin. Moreover, this might argue against the use of such antimicrobial agents in animals suffering from different types of seizure disorders.

Enrofloksacyna należy do grupy fluoropochodnych chinolonów, zaliczanych do nowoczesnych leków przeciwbakteryjnych. Szerokie spektrum działania enrofloksacyny obejmuje szereg drobnoustrojów Gram-ujemnych, Gram-dodatnich i mikoplazm. Lek ten wywiera działanie bakteriobójcze już przy niskich stężeniach we krwi, przy czym maksymalne stężenie enrofloksacyny jest stwierdzane po upływie 1-2 godzin od momentu podania. Stężenie terapeutyczne utrzymuje się długo, co pozwala na podawanie leku w odstępach czasu nie krótszych niż 24 godziny.

Fluorowane pochodne chinolonów mogą wywoływać szereg niepożądanych efektów ubocznych (3), w tym również objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego, takie jak pobudzenie psychomotoryczne, niepokój, a u ludzi także pewne objawy psychotyczne, jak np. halucynacje (12). Te efekty wiążą się najprawdopodobniej z antagonizmem w stosunku do receptorów GABA-ergicznym typu A (2). Kwas γ -aminomasłowy (GABA), endogeny aminokwas pełniący w ośrodkowym układzie nerwowym rolę głównego neuroprzekaźnika hamującego, jest zaangażowany m.in. w procesy hamowania aktywności drgawkowej (7). Część leków przeciwpadaczkowych,

a w szczególności pochodne benzodiazepiny (np. diazepam), niektóre pochodne β -karboliny (abekamil), kwas walproiowy czy barbiturany, wywiera swój efekt przeciwdrgawkowy dzięki nasilaniu hamującego wpływu GABA (1, 5, 7).

Z uwagi na udokumentowane działanie antagonistyczne fluorochinolonów w stosunku do neurotransmisji GABA-ergicznej oraz na fakt coraz powszechniejszego wykorzystywania tych leków w praktyce weterynaryjnej, celem niniejszej pracy było zbadanie, czy podanie enrofloksacyny modyfikuje przeciwdrgawkowe działanie diazepam, leku powszechnie stosowanego do tłumienia stanów drgawkowych u ludzi i zwierząt.

Materiał i metody

Badania wykonano na ok. 130 myszach szczepu Swiss, samcach o masie ciała 28-35 g. Myszy przebywały w metalowych klatkach w standardowych warunkach laboratoryjnych, w naturalnym cyklu dobowym, posiadając nieograniczony dostęp do paszy granulowanej (LSM) i wody. Każde zwierzę było użyte do doświadczenia tylko raz. Diazepam (Relanium-Polfa) zawieszano w 1% roztworze wodnym Tweenu 80 i podawano dootrzewnowo (i.p.) w dawce 10 mg/kg, natomiast roztwór iniekcyjny enrofloksacyny przygotowywano z roztworu komercyjnego (Baytril Inj. 10% – Bayer), który rozcieńczano wodą destylowaną do pożądanego stężenia (0,5%), i podawano w dawce 50 mg/kg w przeliczeniu na enrofloksacynę. Mysiom z grupy kontrolnej podano płyn fizjologiczny. Wszystkie roztwory podawano i.p. w objętości 10 ml/kg 60 minut przed testem elektrycznym. Maksymalne drgawki elektryczne (maximal electroshock seizure test) wywoływano przy użyciu generatora elektrowstrząsów (GE-01, COTM, Białystok). Zwierzęta otrzymywały bodziec elektryczny (napięcie zmienne sinusoidalnie o częstotliwości 50 Hz i czasie trwania impulsu elektrycznym 200 ms) za pośrednictwem zwilżonych płynem fizjologicznym elektrod rogówkowych (ocznych). W celu stwierdzenia wpływu badanych leków na wysokość progu drgawek elektrycznych określono natężenie prądu potrzebne do wywołania tonicznego wyprostów kończyn tylnych u 50% zwierząt (tzw. CC_{50} – convulsant current). Do określenia wartości CC_{50} używano od 3 do 4 grup zwierząt (po 8-11 myszy w każdej), przy czym % efektu dodatniego (wystąpienie drgawek tonicznych) wahał się od >0% do <100%. Jeżeli efekt obserwowany wynosił 0 lub 100%, wówczas wprowadzano dodatkowe grupy odpowiednio zwiększając lub zmniejszając natężenie prądu. Wartość CC_{50} obliczano wg metody Litchfielda i Wilcoxon (6). Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono również w oparciu o powyższą metodę.

Wyniki i omówienie

Przeprowadzone badania wykazały, że enrofloksacyna silnie hamuje przeciwdrgawkowe działanie diazepam w teście maksymalnych drgawek elektrycznych u myszy. Podanie enrofloksacyny w dawce 50 mg/kg nie wpłynęło istotnie na wysokość progu drgawkowego u myszy (tab. 1). Diazepam, podany i.p. w dawce 10 mg/kg wywołał wysoce istotne podwyższenie progu drgawkowego, co odzwierciedla uzyskana wartość CC_{50} – 42,2 mA (tab. 1). Enrofloksacyna w dawce 50 mg/kg w sposób statystycznie istotny osłabiła ochronne działanie dia-

Tab. 1. Wartości progu drgawkowego u myszy po podaniu płynu fizjologicznego, enrofloksacyny, diazepam oraz kombinacji diazepam i enrofloksacyny

Grupa	Lek	n	awka (mg/kg)	CC ₅₀ (mA) (95% przedział ufności)
1	płyn fizjologiczny (grupa kontrolna)	32	(10 ml/kg)	12,0 (11,1-12,9) ^a
2	enrofloksacyna	32	50	11,6 (10,7-12,6) ^a
3	diazepam	30	10	42,2 (28,2-63,0) ^b
4	diazepam + enrofloksacyna	32	10 + 50	21,7 (17,1-27,6) ^c

Objaśnienia: n - liczebność; płyn fizjologiczny oraz roztwory leków podawano i.p., 60 min przed testem elektrycznym. Istotność statystyczną różnic określono przy użyciu metody Litchfielda i Wilcoxon (6). Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$.

zepam, obniżając wartość CC₅₀ aż o 50% w stosunku do wartości otrzymanej po iniekcji diazepam (tab. 1).

Diazepam, lek należący do grupy benzodiazepin, łączący w swoim profilu farmakodynamicznym silne właściwości przeciwlękowe, obniżania napięcia mięśni szkieletowych i przeciwdrgawkowe, wywiera swoje efekty poprzez oddziaływanie na specyficzne struktury błonowe – receptory benzodiazepinowe tworzące kompleks z receptorami GABA_A. Benzodiazepiny, poprzez allosteryczne zmiany konfiguracji kompleksu, nasilają działanie GABA w zakresie otwierania kanału dla jonów chlorkowych, co w konsekwencji prowadzi do nasilenia transmisji GABA-ergicznej (5).

Interakcje pomiędzy benzodiazepinami i chemioterapeutykami chinolonowymi znane są od dość dawna. Thiébot i wsp. (10) opisali antagonizm pomiędzy kwasem oksolinowym i diazepamem w zakresie antykonfliktowego działania diazepam u szczurów. Unseld i wsp. (11) wykazali, że fluoropochodne chinolonów hamowały wiązanie [³H]flunitrazepamu, agonisty receptora benzodiazepinowego, do błon synaptycznych mózgu szczura. Najsilniejszym związkiem w tym zakresie była ciprofloksacyna. Pobudzenie ośrodkowego układu nerwowego wywołane przez ofloksacynę, wyrażone jako zmniejszenie wolnych fal i wzmocnienie rytmu alfa w zapisie elektroencefalograficznym, było nasilane przez kompetycyjnego antagonistę receptora benzodiazepinowego, flumazenil (Ro 15-1788). Powyższe efekty były całkowicie hamowane przez agonistę – midazolam.

Występowanie objawów ubocznych ze strony układu nerwowego należy mieć na uwadze w trakcie stosowania pochodnych fluorowych chinolonów u zwierząt. Mimo, iż leki te dobrze przenikają przez barierę krew/płyn mózgowo-rdzeniowy (stosunek stężeń w płynie mózgowo-rdzeniowym do stężeń we krwi wynosi 0,47-0,87 (9)), przy stężeniach terapeutycznych tych leków we krwi występowanie stężeń w płynie mózgowo-rdzeniowym wystarczających do wywołania niepożądanych objawów ubocznych ze strony układu nerwowego jest raczej mało prawdopodobne. Jednakże należy zaznaczyć, że przenikanie leków poprzez barierę krew/płyn mózgowo-rdzeniowy może być wzmoczone w wielu stanach patologicznych (4). Dodatkowo, donoszono o obniżonym wydalaniu fluorochinolonów z następującą ich kumulacją w organizmie u osobników w podeszłym wieku (8).

W świetle powyższych danych wydaje się, że fluoropochodne chinolonów nie powinny być stosowane u zwierząt cierpiących z powodu różnych form zaburzeń drgawkowych oraz u zwierząt wykazujących inne zaburzenia w funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego. Należy również pamiętać o możliwości antagonizowania przez leki przeciwbakteryjne z tej grupy aktywności leków powiązanych czynnościowo z GABA, a szczególnie benzodiazepin i barbituranów, co w pewnych przypadkach może się wiązać z koniecznością podwyższenia dawkowania tych ostatnich.

Wnioski

1. Enrofloksacyna nie modyfikując progu drgawkowego silnie hamuje działanie przeciwdrgawkowe diazepam.

2. Stosowanie enrofloksacyny (i innych fluorochinolonów) u zwierząt, u których stwierdza się zaburzenia drgawkowe, powinno być ograniczone.

Piśmiennictwo

1. Akaike N., Hattori K., Inomata N., Oomura Y.: J. Physiol. (Londyn) 360, 367, 1985.
2. Akaike N., Shirasaki T., Yakashiji T.: J. Neurophysiol. 66, 497, 1991.
3. Ball P.: Clin. Inv. Med. 12, 28, 1989.
4. Gibaldi M.: Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics, Lea and Febiger, Philadelphia, 1984.
5. Haefely W., Kulschar A., Möhler H., Piere L., Polc P., Schaffner R.: Adv. Biochem. Psychopharmacol. 14, 131, 1975.
6. Litchfield J. T., Wilcoxon F.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 96, 99, 1949.
7. Löscher W.: GABA and the epilepsies. Experimental and clinical considerations, W: GABA: basic research and clinical applications., red. Bowers N. G. i Nistico G., Pythagora Press, Rome, 1989.
8. Neumann M.: Clin. Pharmacokin. 14, 96, 1988.
9. Stübner G., Weinrich W., Brands U.: Infection 14 (Suppl. 4), 250, 1986.
10. Thiébot M.-H., Kloczko J., Chermat R., Simon P., Soubrié P.: Psychopharmacology 67, 91, 1980.
11. Unseld E., Ziegler G., Gemeinhardt A., Janssen U., Klotz U.: Br. J. Clin. Pharmacol. 30, 63, 1990.
12. Zaudig M., v. Bose M., Weber M. M., Bremer D., Ziegglänsberger W.: Pharmacopsychiatry 22, 11, 1989.

Adres autora: dr Piotr Właz, ul. M. C. Skłodowskiej 32/2, 20-029 Lublin

CHASNEY C. J.: Gatunki pcheł występujące u kotów i psów w Południowo-Zachodniej Anglii: dalsze dowody na ich stan poliksemiczny oraz implikacje w zwalczaniu inwazji pasożytniczej. (Species of flea found on cats and dogs in the South-West England: further evidence of their polyxenous state and implications for flea control). Vet. Rec. 136, 356-358, 1995 (14)

Określono gatunki pcheł występujące u kotów i psów w Południowo-Zachodniej Anglii. Badaniem objęto 32 koty w wieku od 2 miesięcy do 16 lat oraz 60 psów w wieku od 2 miesięcy do 14 lat. Wśród kotów dominowały zwierzęta utrzymywane w domu o długiej i krótkiej sierści. *Ctenocephalides felis felis* występował u 30 kotów i 47 psów a *C. canis* występował u 2 kotów i 12 psów. We wszystkich przypadkach dominowały samice pcheł. U 6,3% kotów występował wyłącznie *C. canis* podczas gdy 78,3% psów było porażonych przez *C. felis felis*. Wyniki badań mają istotne znaczenie dla zwalczania inwazji pcheł. Leczenie, nawet długotrwałe, przy użyciu inhibitorów syntezy chityny gdy rezerwuarem pasożyta jest organizm zwierzęcia nie dają efektów. W programie zwalczania należy przy tym uwzględnić poliksemiczną naturę pcheł porażających koty i psy.