

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ПРОТИСУДОМНОЇ ДІЇ РЕКОМБІНАНТНОГО АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1

К.Г.Щокіна, С.Ю.Штриголь*, О.М.Іщенко**

Національний фармацевтичний університет

Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету*
Науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів**

Ключові слова: протисудомна дія; рекомбінантний антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1); судоми, викликані стрихніном, тіосемікарбазидом; коразол

Проведено експериментальне дослідження протисудомної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1) на трьох моделях судом з різною етіологією, що дозволило різnobічно оцінити механізм дії досліджуваного препарату. Результати проведених досліджень свідчать, на моделі коразолових судом АРІЛ-1 чинить виражений протисудомний ефект, за яким не поступається дії референс-препаратору діазепаму, хоча й застосовується в дозі, яка в 6,7 рази нижча за діазепам. На моделі судом, спричинених стрихніном, АРІЛ-1 на відміну від препаратору порівняння гліцину не виявляє протисудомної дії. На моделі судом, викликаних тіосемікарбазидом, АРІЛ-1 спричиняє помірну протисудомну дію, яка достовірно не відрізняється від дії референс-препаратору депакіну в дозі 150 мг/кг та поступається за вираженістю дії депакіну в дозі 300 мг/кг. Проведені дослідження підтвердили наявність у АРІЛ-1 ГАМК-позитивних властивостей та довели перспективність його подальшого вивчення в якості протисудомного засобу.

За даними ВООЗ епілепсія є одним з найпоширеніших захворювань нервової системи. Кожного року захворюваність на епілепсію збільшується на 2 млн осіб, тому сьогодні в світі нараховується понад 40 млн хворих на епілепсію, що складає 0,68% популяції планети [1]. 80% хворих на епілепсію не отримують адекватного лікування. Також відомо, що судомні напади виникають при інших патологічних станах, а саме, при гіпертермії, гіперглікемії, черепно-мозкових травмах, токсичному ураженні мозку судомними отрутами, при інфекційних ураженнях ЦНС тощо [10].

К.Г.Щокіна — канд. фармац. наук, доцент кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

С.Ю.Штриголь — доктор мед. наук, професор кафедри технології ліків з клінічною фармакологією та фармацевтичною опікою Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

О.М.Іщенко — канд. хім. наук, старший науковий співробітник Науково-дослідного інституту особливо чистих препаратів (м. Санкт-Петербург)

Профілактика та лікування судомних нападів є однією з важливих медичних та соціальних проблем сьогодення. Найбільш розповсюдженими протисудомними препаратами є похідні барбітурової кислоти (фенобарбітал), бензодіазепіну (діазепам), сукциніміду (етосуксимід), гідантоїну (фенітоїн), карбоксаміду (карбамазепін), жирні кислоти (вальпроат натрію), сульфат-заміщені моноцукри (топірамат) тощо. Треба визначити, що тривале вживання більшості протисудомних препаратів може привести до пригнічення центральної нервової системи, млявості, сонливості, загаль-

мованості, м'язової слабкості, по-рушення координації рухів, зниження швидкості психічних та фізичних реакцій, погіршення пам'яті, зниження потенції і, що найважливіше, до розвитку лікарської залежності та наркоманії [2, 6, 8, 9]. Тому існує значна потреба в протисудомних лікарських препаратах, здатних попереджати та припиняти напади судом. Отже, створення нових препаратів з подібною фармакологічною активністю є актуальним завданням.

Відомо, що функція імунної системи регулюється мозковими структурами, а також нейрохімічними системами мозку [3, 19]. На підставі цього можна дослідити прямий зв'язок між імунними порушеннями та порушеннями нервової регуляції. Доведено, що цитокіні, зокрема інтерлейкін-1, інтерлейкін-2, інтерлейкін-6, інтерферон, фактор некрозу пухлини, здатні регулювати функції ЦНС [7, 21]. Однією з груп медіаторів, за допомогою яких реалі-

Таблиця 1

Вплив антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 та діазепаму на перебіг коразолових судом у мишей, $n = 50$

Показник	АРІЛ-1, 15 мг/кг		Діазепам, 0,1 г/кг	
	контроль (n = 7)	дослід (n = 8)	контроль (n = 27)	дослід (n = 8)
Латентний період клоніко-тонічних судом, хв	2,8±0,3	9,1±3,4	3,9±0,3	8,2±1,6*
Тяжкість судом, бали	5,6±0,3	3,8±0,5*	5,8±0,1	4,4±0,6*
Кількість клоніко-тонічних судом на 1 тварину	6,1±1,7	3,3±1,1	4,0±0,4	2,5±0,6*
Кількість тварин з клонічними судомами, %	100	75*	100	88*
Кількість тварин з тонічними судомами, %	100	75*	93	50*
Час життя, хв	18,6±7,9	20,2±3,9	25,0±3,4	20,8±8,4
Летальність, %	100	37,5*	93	38*

Примітка: * — достовірно по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$).

зується взаємозв'язок між імуно-компетентними та нервовими клітинами, є цитокіні, зокрема ІЛ-1. Є дані літератури, що свідчать про участь ІЛ-1 в центральних механізмах регуляції фізіологічних функцій організму та впливу на активність моторних зон кори головного мозку тощо [14, 19, 20].

Метою дослідження стало експериментальне вивчення протисудомної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1). В якості об'єкта дослідження використано АРІЛ-1, отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

Матеріали та методи

Вивчення протисудомної дії АРІЛ-1 проводили на 106 білих миших самцях масою 15-22 г на трьох моделях судом з різною етіологією, що дозволило різно-бічно оцінити механізм дії досліджуваного препарату [1, 4]. Умовно ефективна церебропротекторна доза АРІЛ була визначена у попередніх дослідженнях [15].

Коразолові судоми моделювали внутрішньоочеревинним введенням коразолу в дозі 90 мг/кг. Механізм судомної дії коразолу зумовлений пригнічуючим впливом на барбітурат-бензодіазепін-ГАМКергічний комплекс та зниженням активності ГАМК і ГАМК-ергічних гальмівних процесів [11,

12]. В якості референс-препарату було обрано діазепам, який внаслідок стимуляції бензодіазепінових рецепторів збільшує активність ГАМК, що приводить до відкриття хлорних каналів, гіперполаризації клітинних мембрани та зниження збудливості нейронів епілептогенного осередка. При відтворенні моделі лабораторних тварин розподілили на наступні чотири групи: перша та третя — контрольна патологія — тварини отримували коразол у дозі 90 мг/кг внутрішньоочеревинно, $n = 7$ для АРІЛ-1 та $n = 27$ для діазепаму; друга група — АРІЛ-1, 15 мг/кг підшкірно + коразол, $n = 8$; четверта група — діазепам у дозі 0,1 мг/кг внутрішньоочеревинно + коразол, $n = 8$.

Другу модель судом відтворювали внутрішньоочеревинним введенням стрихніну в дозі 2 мг/кг. Механізм дії стрихніну пов'язаний переважно з пригніченням дії гліцинергічного гальмування, особливо в синапсах спинного мозку [11, 12]. Тому препаратом порівняння обрали гліцин. Тварин також розподілили на чотири групи: перша та третя (контрольна патологія) — стрихнін у дозі 2 мг/кг внутрішньоочеревинно, $n = 7$ для АРІЛ-1 та $n = 6$ для гліцину; друга — АРІЛ-1 у дозі 15 мг/кг підшкірно + стрихнін, $n = 6$; четверта — гліцин у дозі 50 мг/кг

внутрішньоочеревинно + стрихнін, $n = 6$.

Третю модель відтворювали підшкірним введенням тіосемікарбазиду в дозі 25 мг/кг (що становить ЕД97), механізм дії якого зумовлений послабленням ГАМК-ергічних гальмівних процесів внаслідок інгібування глутаматдекарбоксилази та пригнічення синтезу ГАМК. Препаратом порівняння обрано депакін (Sanofi, Франція). Він містить валпроат натрію, який гальмує руйнування та стимулює синтез ГАМК, що відповідає ГАМК-негативному механізму експериментальних судом [5, 13, 16, 18]. Для проведення дослідження мишей розподілили на п'ять груп: перша та третя — контрольна патологія $n = 5$ для АРІЛ-1 та $n = 9$ для депакіну, тварини отримували тіосемікарбазид у дозі 25 мг/кг; друга — тварини отримували АРІЛ-1 у дозі 15 мг/кг підшкірно + токсикант; четверта та п'ята — отримували депакін у дозах 150 мг/кг ($n = 6$) та 300 мг/кг ($n = 5$) + тіосемікарбазид.

АРІЛ-1 та препарати порівняння вводили за 10-15 хв до моделювання відповідної судомної патології. В якості показників протисудомної дії обрано латентний період, тривалість клоніко-тонічного нападу в хв, тяжкість судом, кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу, середню кількість тварин з клонічними та тонічними судомами, а також летальність у групі в %. Тяжкість судом визначали в балах: 1 — здригання, 2 — манежний біг, 3 — клонічні напади, 4 — клоніко-тонічні судоми з боковим положенням, 5 — тонічна екстензія, 6 — тонічна екстензія, що призводить до загибелі тварин.

У разі обліку результатів у вигляді середня±стандартна помилка статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента, у разі реєстрації результатів в альтернативній формі — за кутовим перетворенням Фішера.

Результати та їх обговорення

Кількісні результати дослідження наведені в табл. 1-3.

Таблиця 2

Вплив антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 та гліцину на перебіг судом у мишей, викликаних стрихніном, $n = 25$

Показник	АРІЛ-1, 15 мг/кг		Гліцин, 50 мг/кг	
	контроль (n = 7)	дослід (n = 6)	контроль (n = 6)	дослід (n = 6)
Латентний період клоніко-тонічних судом, хв	8,6±0,5	6,3±1,5	2,7±0,3	4,2±0,6*
Тяжкість судом, бали	5,4±0,2	5,5±0,1	5,5±0,2	5,3±0,2
Кількість клоніко-тонічних судом на 1 тварину	2,3±0,5	4,6±0,7	1,5±0,3	1,3±0,2
Кількість тварин з клонічними судомами, %	100	100	100	100
Кількість тварин з тонічними судомами, %	100	100	100	100
Час життя, хв	8,7±0,6	7,7±0,4	4,2±0,7	10,0±3,6
Летальність, %	83,3 (5/6)	100	100	100

Примітка: * — достовірно по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Аналіз даних табл. 1 свідчить, що в групі тварин, які одержували АРІЛ-1 у дозі 15 мг/кг, латентний період судомних нападів достовірно збільшився у середньому в 3,3 рази, тяжкість судом знизилась у 1,5 рази та у 1,8 рази зменшилась кількість судом на 1 тварину відносно показника групи контрольної патології.

У групі тварин, які отримували діазепам, тривалість латентного періоду судомних нападів достовірно збільшилась у 2,1 рази, тривалість судомного періоду — в 1,7 рази, час життя тварин збільшився в 1,2 рази. Спостерігалось зниження тяжкості (в 1,3 рази) та кількості клонічних і тонічних судомних нападів на 1

тварину (в 1,6 рази). Клонічні напади зафіксовані у 88% мишей, тонічні — у 50%, що достовірно в 1,5 рази нижче, ніж аналогічний показник у групі мишей, які отримували АРІЛ-1. Показник летальності в групах мишей, що отримували АРІЛ-1 та діазепам, співпадає (37,5-38%).

Таким чином, на моделі судом, викликаних введенням коразолу, АРІЛ-1 чинить виражений протисудомний ефект, за яким не поступається препарату порівняння діазепаму.

За результатами табл. 2 визначено, що введення АРІЛ-1 не призвело до достовірних змін латентного періоду судомних нападів, тяжкості судом, кількості клонічних і тонічних судомних нападів на 1

ніко-тонічних судом на одну тварину та часу життя піддослідних тварин порівняно з показниками групи контрольної патології.

Введення гліцину сприяло достовірному подовженню латентного періоду та підсиленню тенденції до збільшення часу життя в 2,4 рази (одна миша прожила 26 хв). Також спостерігалось деяке зниження тяжкості судом: 2 тварини з 6 пережили тяжкі п'ятивічальні судоми та залишились в боковому положенні з періодичними клонічними судомами упродовж 6-18 хв. Це дає змогу стверджувати, що загибель мишей була спричинена не тільки тонічним скороченням дихальних м'язів та гострою зупинкою дихання, як це типово для дії стрихніну, але й зростанням гіпоксії та відповідно набряком мозку [11].

АРІЛ-1 та гліцин не зменшували кількості тварин з клонічними та тонічними судомами, а також їх летальність.

Таким чином, на моделі судом, викликаних стрихніном, АРІЛ-1 не чинить протисудомної дії.

На моделі судом, спричинених введенням тіосемікарбазиду, АРІЛ-1 в дозі 15 мг/кг сприяв достовірному збільшенню латентного періоду судом та часу життя піддослідних тварин порівняно з групою контрольної патології (в 1,3 рази та 1,4 рази відповідно), а також виявляв певну тенденцію до зниження тяжкості судом.

Введення препарату порівняння депакіну в дозі 150 мг/кг, на-

Таблиця 3

Вплив антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 та депакіну на перебіг судом у мишей, викликаних тіосемікарбазидом, $n = 31$

Група тварин	Кількість тварин	Доза, мг/кг	Латентний період судом, хв	Тяжкість судом, бали	Кількість клоніко-тонічних судом на 1 тварину	Кількість тварин з судомами, %		Час життя, хв	Летальність, %
						клонічними	тонічними		
Контроль	5	-	48,6±2,3	6,0±0	3,0±0,6	100	100	81,8±8,8	100 (5/5)
АРІЛ-1	6	15	65,2±6,0*	5,6±0,2	3,0±0,6	100	100	111,2±7,1*	100 (6/6)
Контроль	9	-	64,5±3,3	6,0±0	3,8±0,5	100	100	99,2±14,1	100 (9,9)
Депакін	6	150	57,8±2,8*	5,3±0,3*	2,3±0,4*	100	100	79,8±7,2*	100 (6/6)
Депакін	5	300	109,0±11,4*	4,7±0,4*	3,5±0,9	80*	80*	164,0±21,5*	80* (4/5)

Примітка: * — достовірно по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$).

впаки, сприяло достовірному скороченню латентного періоду судомних нападів (в 1,1 рази) та часу життя піддослідних тварин (в 1,2 рази) порівняно з контрольною патологією. Але під дією депакіну в дозі 150 мг / кг спостерігалось достовірне зниження тяжкості судом та кількості клоніко-тонічних нападів на одну тварину. Кількість тварин з клоніко-тонічними судомами та летальність під впливом обох досліджуваних речовин склала 100%.

Збільшення дози депакіну до 300 мг / кг не призвело до зменшення тяжкості судом, але спричинило достовірне подовження латентного періоду судом в 1,7 рази, знизило тяжкість судом на одну тварину в 1,3 рази. Кількість тварин з клоніко-тонічними судомами та летальність порівняно з

группою контрольної патології зменшились на 20%, час життя тварин збільшився в 1,7 рази.

Таким чином, на даній моделі судом АРІЛ-1 виявив помірну протисудомну дію, за якою не поступався референс-препаратурі в дозі 150 мг / кг. Також варто зазначити, що доза АРІЛ-1 була в 10 разів нижче за дозу депакіну, тобто активність досліджуваної речовини значно вища.

ВИСНОВКИ

Результати проведених досліджень свідчать, що на моделі ко-разолових судом АРІЛ-1 чинить виражений протисудомний ефект, за яким не поступається дії референс-препарату діазепаму, хоча й застосовується в дозі в 6,7 рази нижчій за діазепам. На моделі судом, спричинених стрихніном, АРІЛ-1 на відміну від препарату

порівняння гліцину не виявляє протисудомної дії. На моделі судом, викликаних тіосемікарбазидом, АРІЛ-1 спричиняє помірну протисудомну дію, яка достовірно не відрізняється від дії референс-препарату депакіну в дозі 150 мг / кг та поступається за вираженістю дії депакіну в дозі 300 мг / кг.

Співставлення протисудомної дії АРІЛ-1 на різних моделях судом дає змогу припустити механізм його протисудомного ефекту, який, імовірно, пов'язаний зі впливом на активність ГАМК та не залежить від активності гліцинергічних гальмівних процесів. Проведені дослідження підтвердили наявність у АРІЛ-1 ГАМК-позитивних властивостей та дозвели перспективність його подальшого вивчення в якості протисудомного засобу.

ЛІТЕРАТУРА

- Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. — М.: Медицина, 1974. — 143 с.
- Генералов В.О., Федин А.И., Прокина Е.В., Мишинякова Л.П. //Атмосфера. Нервные болезни. — 2005. — №2. — С. 50-52.
- Данн А., Визорек М., Свиригил А. Механизмы сигнальной трансдукции цитокинов в мозге //Матер. Междунар. симпоз. “Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии”, Санкт-Петербург, Россия, 16-19 июня 2009 г. — С.Пб., 2009. — 664 с.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекоменд. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стєфанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 352-360.
- Калинин В.В. //Психиатрия и психофармакотерапия. — 2005. — Т. 5, №3. — С. 37-45.
- Каркашадзе М.З., Студеникин В.М., Маслова О.И. и др. //Вопросы современной педиатрии. — 2003. — Т. 2, №3. — С. 43-49.
- Катафучи Т. Нейромодулирующее действие и механизмы цитокин-индукцированной супрессии медиальных преоптических нейронов //Матер. Междунар. симпоз. “Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии”, Санкт-Петербург, Россия, 16-19 июня 2009 г. — С.Пб., 2009. — 664 с.
- Компендіум 2007 — лікарські препарати / За ред. В.М.Коваленка, О.П.Вікторова. — К.: МОРІОН, 2007. — 2270 с.
- Малин Д.И. Побочное действие психотропных средств. — М.: Вузовская книга, 2000. — 207 с.
- Масштаб неврологических и психиатрических проблем в последнем десятилетии ХХ века и тенденции их будущего развития в свете статистическо-эпидемиологических данных ВОЗ // Журн. неврол. и психиатр. — 1999. - №1. — С. 56-63.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: РИА “Новая волна”: Издатель Умеренков, 2008. — 1206 с.
- Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ / Т.А.Воронина, Р.У.Островская //Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2005. — С. 153-158.
- Морозов П.В. //Психиатрия и психофармакотерапия. — 2004. — Т. 6, №1. — С. 89-96.
- Симбірцев А.С. //Цитокіни и воспаление. — 2004. — Т. 3, №2. — С. 16-22.

15. Супрун Е.В., Штриголь С.Ю., Іщенко О.М. //Клінічна фармація. — 2009. — Т. 13, №1. — С. 59-63.
16. Тюренков И.Н., Бородкина Л.Е., Воронков А.В. //Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2004. — №11. — С. 24-27.
17. Biton V., Mirza W. //Neurol. — 2001. — №56. — Р. 172-177.
18. Betts T., Yarrow H. //Seizure. — 2003. — №12. — Р. 323-329.
19. Donath M.Y., Storling J., Berchtold L.A. et al. //Endocr. Rev. — 2008. — №29. — Р. 334-350.
20. Hallegua D.S., Weisman M.H. //Ann. Rheum. Dis. — 2002. — №61 (11). — Р. 960-967.
21. Parry-Jones A.R., Liimatainen T., Kauppinen R.A. et al. //Magn. Reson. Med. — 2008. — №59. — Р. 1239-1249.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 53. Тел. (57) 706-30-69.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 26.01.2010 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату, який містить **ацетилсаліцилову кислоту** (Аналгетики-антіпіретики. Код ATC N02BA01)

Хвора Р. (17 років) для усунення симптоматики ГРВІ (самолікування) прийняла препарат, який містить ацетилсаліцилову кислоту (перорально, 500 мг одноразово). Через 2 години після першого прийому препарату, який містить ацетилсаліцилову кислоту, у хворої виникло висипання за типом к ропив'янки, відчуття свербежу. Препарат, який містить ацетилсаліцилову кислоту, було відмінено. Викликана карета швидкої допомоги, після надання невідкладної допомоги (дексазон, супрастин, агістам, семпрекс, ентеросгель) хвору було госпіталізовано до обласної лікарні. В минулому спостерігався набряк Квінке при застосуванні цитрамону.

Інформація надійшла від Кіровоградського регіонального відділення ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України