

# ЦЕРЕБРО- ТА КАРДІОПРОТЕКТОРНА ДІЯ АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 НА МОДЕЛІ ЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ У ЩУРІВ

*E.B. Супрун, С.Ю. Штриголь, О.М. Іщенко\**

Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету  
Державний науковий центр Державного науково-дослідного інституту особливо чистих біопрепаратів\*

*Ключові слова:* ІЛ-1; АРІЛ-1; експериментальна церебральна ішемія; кардіопротекторна дія

На моделі білатеральної оклюзії загальних сонних артерій у щурів проведено дослідження церебро- та кардіопротекторної активності антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1) у дозах 1-15 мг/кг (у профілактичному режимі введення) в порівнянні з класичним церебропротекторним препаратом пірацетамом. Відзначено дозозалежне зниження летальності тварин з глобальною церебральною ішемією при застосуванні АРІЛ-1. Церебральна ішемія у щурів прогресуюче знишила їх орієнтовно-дослідницьку та рухову активність, при цьому введення 10-15 мг/кг АРІЛ-1 відновило показники поведінкових реакцій практично до початкового рівня. Застосування АРІЛ-1 на 10-13% знижило вираженість набряку головного мозку у щурів після церебральної ішемії. У 80% контрольних тварин на 5-й хвилині церебральної ішемії розвивались ЕКГ-ознаки цереброкардіального синдрому, який вірогідно блокувався введенням АРІЛ-1 з нормалізацією систолічного показника та зниженням тахікардії.

**А**ктуальність судинної патології мозку та серця пояснюється їх широким розповсюдженням, значною частиною у структурі захворюваності та летальності населення, тимчасової непрацездатності та інвалідності. Щорічно інсульт та інфаркт міокарда трапляється у більше 20 млн людей, при цьому інсульт “молодша” зі зсувом максимального розповсюдження у працездатні вікові категорії хворих. Рання летальність після інфаркту та інсульту сягає 35%, а протягом першого року — 50% [15]. Необхідна своєчасна та ефективна профілактика та лікування судинних захворювань [1, 9, 12].

Переважають ішемічні ураження головного мозку, що потребують раннього початку лікування. Основна мішень цереброваскуляр-

ної та нейропротекторної терапії — зона ішемічної напівтіні [1, 3], але корекція тільки гемостатичних та реологічних порушень при ішемічному інсульті (ІшІ) недостатньо ефективна.

Енергетичний дефіцит в ішемізованому мозку ініціє глітамат-кальцієвий каскад з надлишковим вивільненням збуджуючих амінокислот та надмірним внутрішньоклітинним накопиченням іонів  $Ca^{2+}$ , що спричиняє загибель нейрону. До патогенезу ІшІ залучені імунні механізми — локальна запальна реакція, аутоімунна агресія, апоптоз, які тісно взаємопов’язані з гемокоагуляційними та реологічними зсувами в крові [2, 10, 13].

Імунокомпетентним компартментом у центральній нервовій системі є мікроглія, що бере участь у реакціях на ішемію. При експери-

ментальній ішемії мікログлія продукує токсичні для мозку прозапальні та протективні протизапальні цитокіні [5, 6]. В умовах ІшІ підвищується продукція інтерлейкіну-1 (ІЛ-1), що збільшує набряк мозку, розмір інфарктної зони, кількість нейтрофілів, які адгезовані до ендотелію та інфільтрують ділянку ішемії. Це індукує та підтримує запалення в осередку ішемії, веде до віддаленої загибелі нейронів, змін мікроциркуляції та гематоенцефалічного бар’єра. Експресія ІЛ-1 викликає синтез антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1), що сприяє виживанню нейронів і зменшує постішемічне рубцювання [5, 9, 10, 13]. АРІЛ-1 конкурентно зв’язується з рецепторами ІЛ-1 мембраничного типу I та запобігає взаємодії рецептора ІЛ-1 з його акцепторним білком, що блокує проведення сигналу від ІЛ-1 усередину клітини [6].

Гостра стадія ІшІ супроводжується функціональними порушеннями серцево-судинної системи, які зумовлюють високу ймовірність виникнення патологічних

**Е.В. Супрун** — канд. мед. наук, доцент кафедри клінічної фармакології та фітотерапії Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

**О.М. Іщенко** — канд. біол. наук, завідувач лабораторії біохімії білка Державного наукового центру Державного науково-дослідного інституту особливо чистих біопрепаратів (м. Санкт-Петербург)

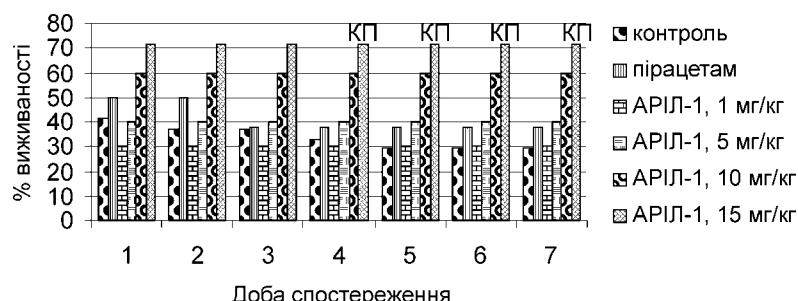


Рис. 1. Виживаність щурів з церебральною ішемією

Примітки (для рис. 1-9):

- 1) \* — відхилення вірогідні порівняно з початковим рівнем,  $p < 0,05$ ;
- 2) К — відхилення вірогідні порівняно з контрольною групою,  $p < 0,05$ ;
- 3) П — відхилення вірогідні порівняно з групою пірацетаму,  $p < 0,05$ .

змін у серці [4, 6]. Відзначаються зміни адренергічного апарату та підсилення пероксидного окиснення ліпідів мембрани кардіоміоцитів, неврогенні зміни сегменту ST — цереброкардіальний синдром (ЦКС), що погіршує перебіг постінсультного періоду [5, 6]. Ступінь гіоперфузії головного мозку корелює з кардіальними порушеннями [14]. Цитокіні  $\text{IL-1}\beta$  та API-1 впливають на міокард при гострій церебральній ішемії через ендотеліальні клітини та кардіоміоцити.  $\text{IL-1}\beta$  та  $\text{FN}\text{P-}\alpha$  синергічно знижують скоротливість міокарда *in vivo* в інтактних тварин, *in vitro* в культурі кардіоміоцитів та індукують їх апоптоз.  $\text{IL-1}\beta$  пригнічує вольтаж-залежний кальцієвий потенціал у кардіоміоцитах шлуночків у щурів, інгібує транскрипцію генів, залучених у функціонування вольтаж-залежних кальцієвих каналів. Крім того,  $\text{IL-1}\beta$  знижує експресію гена фосоламбанду — регулятора скоротливості кардіоміоцитів [5].

З урахуванням широкої розповсюдженості сполучених ура-

женъ судин мозку та серця, значних проявів серцевої недостатності при ІшІ, їх патогенетичного взаємозв'язку через "цитокіновий" каскад (надмірна продукція  $\text{IL-1}$  та недостатня API-1) метою роботи є з'ясування можливої церебро- та кардіопротекторної дії API-1 при експериментальній гострій ішемії у щурів. Препаратором порівняння обрано пірацетам — класичний церебропротектор, який широко використовують для лікування ІшІ.

### Матеріали та методи

API-1 отримано в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП шляхом генної трансформації бактерій *E.coli*. Досліди виконано на 69 білих щурах масою 150-200 г, що були розподілені на 6 груп. 1 група — контрольна патологія (тварини з ішемією головного мозку без лікування). Щурам 2, 3, 4 та 5 груп профілактично вводили API-1 внутрішньом'язово в дозах 1, 5, 10 та 15 мг/кг (дворазово протягом 3 днів, останній раз за 1 год до церебральної ішемії). Препарат по-

рівняння пірацетам вводили тваринам 6 групи в тому ж режимі в дозі 200 мг/кг, що достатньо для прояву церебропротекторної дії [8]. Гостру ішемію головного мозку у щурів відтворювали під нембуталовим наркозом (40 мг/кг) шляхом незворотної білатеральної каротидної оклюзії. Реєстрували ЕКГ у стандартних відведеннях після препарування сонних артерій (до ішемії) та на 5-й хв їхньої оклюзії (після ішемії). Церебропротекторну дію оцінювали за виживаністю щурів протягом тижня, поведінковими реакціями в тесті "відкрите поле" (до операції та протягом 5 діб після неї) та масою мозку тварин. Кардіопротекторний ефект верифікували за запобіганням розвитку ЕКГ-проявів ЦКС.

Для статистичного аналізу використовували кутове перетворення Фішера, критерії t Стьюдента та U-параметр Вілкоксона-Мана-Уйтні.

### Результати та їх обговорення

Загибель тварин контрольної групи при церебральній ішемії збільшилась з 1-ої (50,3%) до 5-ої (70,8%) доби спостереження (рис. 1).

У всіх групах щурів, які отримували API-1, загибель тварин відзначена тільки протягом 1-ої доби, дозозалежно зменшуючись з 70% до 38,6%. До кінця тижня спостереження показник виживаності щурів у цих групах залишився на рівні 1-ої доби, відповідно 30%, 40%, 60% і 71,4%, що було вірогідно відносно показників контрольної групи (з 4-ої доби).

У групі щурів, що отримували пірацетам, летальність з 50% на 1-у та 2-у доби спостереження збільшилась до 62% на 3-ю та в подальшому. Церебропротекторна активність пірацетаму склада 38%, що невірогідно відносно контролю, та виявлена значно менше в порівнянні з API-1 у дозі 10-15 мг/кг.

Церебральна ішемія веде до прогресуючого зниження орієнтовно-дослідницької та рухової активності тварин. У контрольній

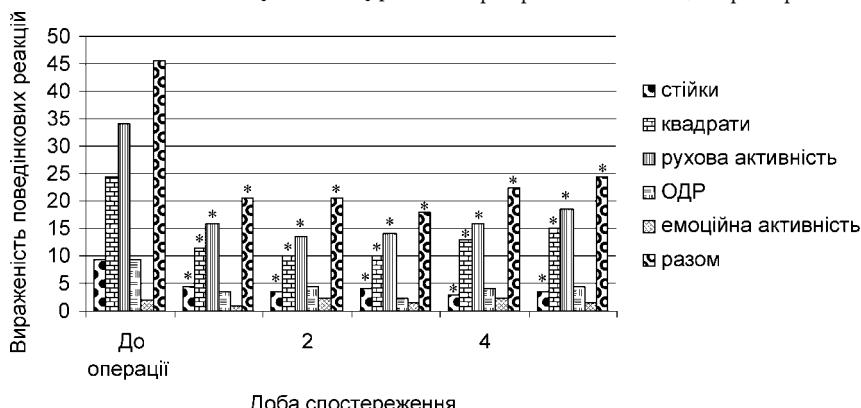


Рис. 2. Поведінкові реакції щурів з церебральною ішемією (контроль)

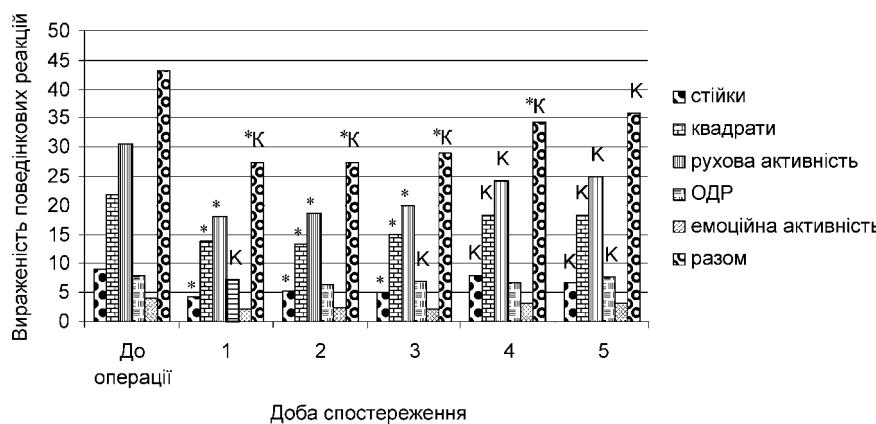


Рис. 3. Поведінкові реакції щурів з церебральною ішемією (пірацетам)



Рис. 4. Поведінкові реакції щурів з церебральною ішемією (APIЛ-1 1 мг/кг)



Рис. 5. Поведінкові реакції щурів з церебральною ішемією (APIЛ-1 5 мг/кг)

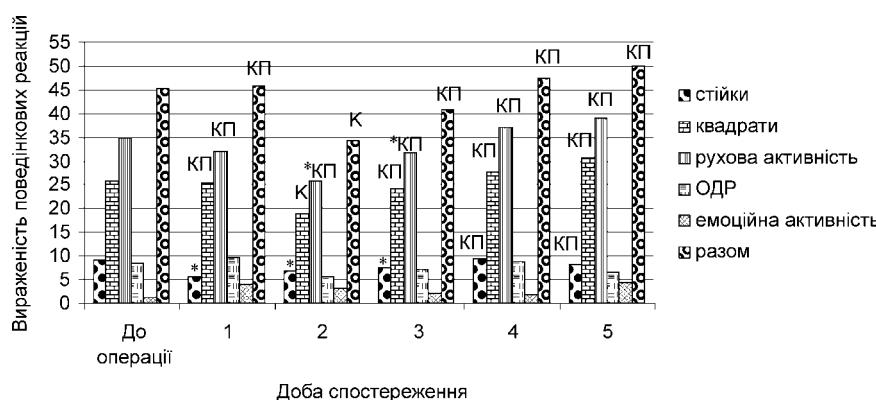


Рис. 6. Поведінкові реакції щурів з церебральною ішемією (APIЛ-1 10 мг/кг)

групі це проявилося різким рівномірним зменшенням кількості стійок, перетнутих квадратів та досліджених отворів на рівні 41-49% від початкового значення (рис. 2). У групі тварин, які отримували пірацетам, зміни поведінкових реакцій після операції менш виразні — показники рухової активності знизились на 31% від початкового рівня, дослідження отворів — на 14%, що вірогідно вище за показники контрольної групи (рис. 3). Зміни показників спонтанної рухової активності усіх груп тварин, які отримували APIЛ-1, відносно початкових значень виражені найменше (рис. 4-7). Після церебральної ішемії кількість горизонтальних рухів у залежності від дози APIЛ-1 зменшилась з 22% (1 мг/кг) до 2% (15 мг/кг), вертикальний компонент відповідно знизився з 35% до 4%. Кількість досліджених отворів у групах тварин, які отримували APIЛ-1, у порівнянні з початковим рівнем знизилась з 36% (1 мг/кг) до 6% (15 мг/кг). У цілому поведінкові реакції тварин, які отримували APIЛ-1 у дозі 15 мг/кг, на 4-5 добу після моделювання ішемії практично повернулись до початкових показників, що підтверджує церебро-протекторну дію APIЛ-1 у щурів.

Показником тяжкості стану при церебральній ішемії є масовий коефіцієнт мозку. В порівнянні з інтактними тваринами у групі контролю він збільшився на 18% (рис. 8), що відбуває вираженість набряку головного мозку при ІшІ.

Пірацетам статистично невірогідно сприяв зниженню маси мозку щурів у порівнянні з контролем на 5%. У щурів з церебральною ішемією застосування APIЛ-1 у дозі 10-15 мг/кг інгібувало екстравазацію рідини, що підтвержується зниженням маси мозку порівняно з контролем на 10-13%.

Центральні порушення вегетативної регуляції при церебральній ішемії обумовлюють розвиток ЦКС. Зміни ЕКГ у контрольній групі тварин у гострому періоді церебральної ішемії характеризуються порушеннями фази реполяризації шлуночків з патологіч-



Рис. 7. Поведінкові реакції щурів з церебральною ішемією (APIL-1 15 мг/кг)

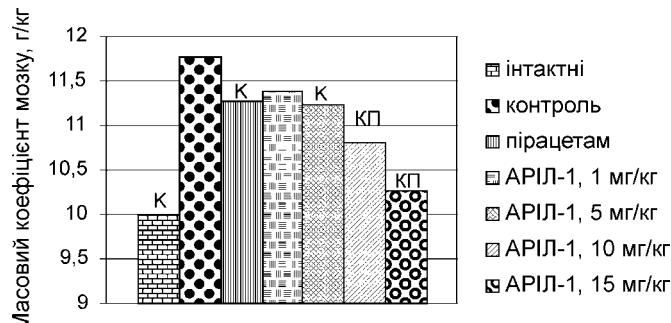


Рис. 8. Маса мозку щурів з церебральною ішемією

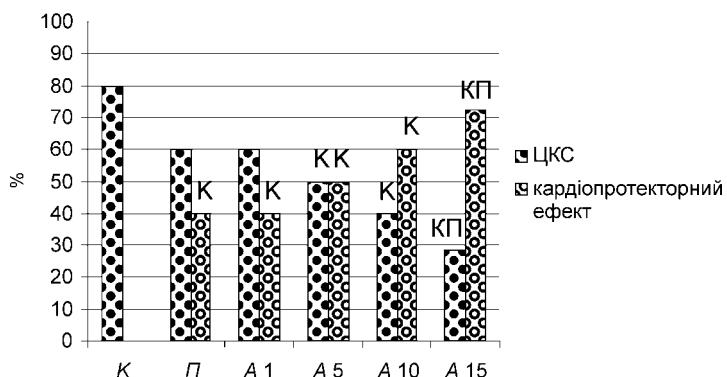


Рис. 9. Частота ЦКС у щурів з церебральною ішемією та кардіопротекторний ефект APIL-1 та пірацетаму.

К — контроль, П — пірацетам,

А — APIL-1 відповідно у дозах 1; 5; 10; 15 мг/кг

ним підіманням сегменту ST над ізолінією, що аналогічно монофазній елевації сегменту ST у гострій стадії ураження міокарда. Ці ЕКГ-ознаки ЦКС розвивались на 5-й хвилині у 80% тварин (рис. 9). При цьому відзначено вірогідне збільшення частоти серцевих скорочень (ЧСС) як результат активації симпатоадреналової системи в умовах церебральної ішемії. Показником дистрофічних змін міокарда шлуноч-

ків є вірогідне зростання систолічного показника (СП), що відбиває зниження скоротливості.

Уведення тваринам APIL-1 перед гострою церебральною ішемією спричинило захисну дію на міокард, що підтверджується даними ЕКГ. Дози APIL-1 5-15 мг/кг знижують тахікардію, нормалізують СП. Частота ЕКГ-ознак ЦКС зменшилась відповідно до доз APIL-1 у 60%, 50%, 40% та 28,6% тварин. Кардіопротекторна активність

APIL-1 більш виражена в дозі 10-15 мг/кг і складає 60 і 71,4% відповідно. У групі щурів, які отримували APIL-1 у дозі 15 мг/кг, відзначено вірогідну відсутність впливу на ЧСС, при цьому СП вірогідно відрізняється від показників контрольних тварин як до ішемії, так і після неї.

Пірацетам у дозі 200 мг/кг виявив кардіопротекторну дію на рівні APIL-1 і дозі 1 мг/кг (60%), проте при збільшенні дози до 10-15 мг/кг за вираженістю ефекту APIL-1 вірогідно перевищує пірацетам.

Ступінь неврологічних та цереброкардіальних уражень при церебральній ішемії залежить від балансу рівнів ІЛ-1 та APIL-1. В умовах експериментальної ішемії головного мозку гіперпродукція прозапального ІЛ-1 спричиняла збільшення набряку тканини мозку, зниження рухової активності тварин та їх загибелю. Разом з цим спостерігались ознаки ЦКС з розвитком серцевої недостатності на фоні збільшення ЧСС. APIL-1 дозозалежно знижує вираженість ушкоджуючої дії ІЛ-1 при ішемії мозку та вірогідно збільшує виживаність тварин, зменшує набряк головного мозку, покращує показники рухової та орієнтовно-дослідницької активності, блокує розвиток ЦКС (за даними ЕКГ на 5-й хвилині церебральної ішемії).

Отримані дані відкривають нові перспективи для оптимізації ефективної терапії ІШІ та ЦКС.

#### ВИСНОВКИ

1. Виживаність щурів з церебральною ішемією дозозалежно збільшилась при профілактичному введенні APIL-1.

2. Поведінкові реакції щурів після гострого періоду церебральної ішемії відновились практично до початкових показників при введенні APIL-1 у дозі 10-15 мг/кг.

3. Вираженість набряку головного мозку щурів при церебральній ішемії знизилась при застосуванні APIL-1 у дозі 5-15 мг/кг.

4. Введення APIL-1 щурям перед моделюванням церебральної ішемії захищило міокард від розвитку ЦКС.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Виничук С.М., Черенько Т.М. *Ишемический инсульт: Эволюция взглядов на стратегию лечения.* — К., 2003. — 120 с.
2. Герасимова М.М., Жданов Г.Н. //Неврол. журн. — 2005. — Т. 10, №1. — С. 19-21.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И. *Ишемия головного мозга.* — М.: Медицина, 2001. — 328 с.
4. Долгов А.М. //Вестник интенсивной терапии. — 1995. — №2. — С. 15-18.
5. Жданов Г.Н., Герасимова М.М. //Цитокины и воспаление. — 2006. — Т. 5, №1. — С. 27-30.
6. Симбирцев А.С. //Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, №2. — С. 16-22.
7. Скворцова В.И. //Качество жизни. Медицина. — 2004. — №4. — С. 10-12.
8. Штыриголь С.Ю. *Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах: Монография.* — Х.: Ависма-ВЛТ, 2007. — 360 с.
9. Arend W.P. //Cytokine Growth Factor Rev. — 2002. — Vol. 13, №4-5. — P. 323-340.
10. Bartko D., Ducat A., Janco S. et al. //Vnitr Lec. — 1996. — Vol. 42. — P. 482-489.
11. Christadoss P., Goluszko E. *Myasthenia Gravis.* — Humana press, NJ, 2002. — P. 373-385.
12. Down J.D., White-Schaf M.E. //Stem Cells. — 2003. — Vol. 21, №1. — P. 21-32.
13. Ferrarese C., Mscarucci P., Zoai C et al. //J. Cerebr. Blood Flow Metab. — 1999. — Vol. 19, №9. — P. 1004-1009.
14. Tokgozoglu S.L., Batur M.K., Topcuoglu M.A. et al. //Stroke. — 1999. — Vol. 30. — P. 1307-1311.
15. Vemmos K.N., Bots M.L., Tsibouris P.K. et al. //J. Neurosurg. Psychiatry. — 2000. — Vol. 69, №5. — P. 595-600.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,  
вул. Пушкінська, 53. Тел. (057) 706-30-63.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 29.11.2007 р.