ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНІ ВЛАСТИВОСТІ АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 НА МОДЕЛІ ГРАВІТАЦІЙНОЇ ЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ

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

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

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

Цереброваскулярна патологія мозку є однією з найактуальніших медичних і соціальних проблем. У патогенезі церебральної ішемії бере участь підвищення продукції прозапальних цитокінів, у тому числі інтерлейкіну-1. В статті наведені результати дослідження церебропротекторної активності рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1) на моделі гравітаційної церебральної ішемії у мишей. Встановлено, що виживаність мишей із моделлю глобальної церебральної ішемії гравітаційного генезу під впливом АРІЛ-1 (на відміну від пірацетаму) вірогідно зростає вдвічі. АРІЛ-1 краще за пірацетам покращує м'язовий тонус і координацію рухів та відновлює пам'ять тварин, порушену під впливом церебральної ішемії.

Цереброваскулярна патологія мозку є однією з найактуальніших медичних і соціальних проблем. У патогенезі церебральної ішемії бере участь підвищення продукції прозапальних цитокінів, у тому числі інтерлейкіну-1 (ІЛ-1) [4, 10, 14, 15]. На моделі білатеральної каротидної оклюзії у щурів вперше виявлені потужні дозозалежні церебропротекторні властивості антагоніста рецепторів ІЛ-1 (АРІЛ-1) у вигляді збільшення виживаності, зменшення набряку головного мозку та неврологічного дефіциту за тестом "відкрите поле", причому церебропротекторна дія супроводжувалась редукцією проявів цереброкардіального синдрому за даними ЕКГ [5, 8]. Постає питання щодо ефективності АРІЛ-1 на інших моделях ішемічного ураження ЦНС та розширення характеристик церебропротекторної дії даного засобу за такими важливими показниками стану ЦНС як м'язовий тонус і координація рухів. Крім того, дуже важливе значення має вплив потенційного церебропротектора на стан когнітивних функцій, оскільки порушення мозкового кровообігу часто супроводжується розвитком когнітивного дефіциту [11, 12, 13]. Вирішення цих питань склало мету даного дослідження.

Матеріали та методи

В експерименті використано АРІЛ-1, отриманий в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП методом генної інженерії. Досліди виконано на 57 білих мишах самцях масою 15-20 г. Гостре порушення мозкового кровообігу з розвитком глобальної церебральної ішемії моделювали оригінальним способом — шляхом створення гравітаційного перевантаження 6g у краніо-каудальному векторі протягом 30 с [6, 9]. При цьому виключається вплив наркозу, а кров відтікає від головного мозку в усіх його судинних басейнах. АРІЛ-1 вводили в найбільш ефективній дозі 15 мг/кг підшкірно за 30 хв до моделювання гравітаційної церебральної ішемії. У тому ж режимі використовували препарат порівняння пірацетам ("Дарниця", 200 мг/кг внутрішньоочеревинно). Контрольні тварини отримували замість препаратів ізотонічний розчин NaCl у відповідному об'ємі.

Вплив на м'язовий тонус і координацію рухів вивчали за тестом стрижня, що обертається зі швидкістю 10 об/хв. Визначали кількість мишей, що впали зі стрижня за певні проміжки часу [1]. Тестування проводили двічі —

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

С.Ю.Штриголь — доктор мед. наук, професор кафедри технології ліків та клінічної фармакології з 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 біопрепаратів (м. Санкт-Петербург)

Таблиця 1

Вплив антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 і пірацетаму на виживаність мишей в умовах моделі гравітаційної церебральної ішемії, n = 50

Кількість тварин, що вижили	Контрольна патологія (n=20)	АРІЛ-1, 15 мг/кг (n=10)	Пірацетам, 200 мг/кг (n=20)
абс.	7	7	10
%	35,0	70,0*	50,0

Примітка. * — достовірні відмінності з показником групи контрольної патології (p<0,05).

перед моделюванням церебральної ішемії та через 30 хв після неї у тварин, що вижили. Для вивчення стану когнітивних функцій, а саме пам'яті, використовували метод умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ) [7]. УРПУ виробляли за добу до моделювання гравітаційного ПМК. Визначали латентний період входу тварин до темної камери, де вони отримували електробольове подразнення. Збереженість пам'ятного сліду перевіряли через 24 год (мишей, що не увійшли до темної камери протягом 180 с, вважали такими, що досягли критерію навченості). Далі вводили досліджувані препарати та відтворювали глобальну церебральну ішемію, яка виконувала роль ретроградного амнезувального чинника. Через 30 хв постішемічного періоду вивчали неврологічний статус тварин за тестом стрижня, що обертається, через 24 год повторно визначали стан пам'яті за УРПУ.

Для статистичної обробки результатів, наведених у вигляді середнє ± стандартна помилка середнього, використовували t-критерій Стьюдента. У разі врахування результатів в альтернативній формі (кількість тварин, що вижили/загинули, впали/не впали зі стрижня, досягли/не досягли критерію навченості) користувалися кутовим перетворенням Фішера.

Результати та їх обговорення

Після відтворення моделі гравітаційної ішемії загибель тварин відбувалася протягом перших 10-15 хв. У групі контрольної патології вижило 35% мишей (табл. 1). Під впливом АРІЛ-1 цей показник збільшився до 70% (p<0,05). У групі пірацетаму виживаність сягала 50%, тобто дещо зростала, але не мала вірогідних відмінностей від виживаності в групі контрольної патології. Отже, пірацетам у дозі 200 мг/кг не виявляє потужних церебропротекторних властивостей на моделі гравітаційної церебральної ішемії, що підтверджує результати [3].

Порушення координації рухів і м'язового тонусу в ранньому постішемічному періоді виявилось у вірогідному збільшенні кількості мишей групи контрольної патології, які не втрималися на стрижні, що обертається (табл. 2). АРІЛ-1 покращував досліджуваний показник: кількість тварин, які не втрималися на стрижні, зменшилась, особливо протягом першої хвилини, коли не існувало вірогідних відмінностей з інтактним контролем. Пірацетам був менш ефективним.

АРІЛ-1 також краще за пірацетам сприяв поліпшенню (до рівня інтактного контролю) пам'яті, яка погіршувалась під впливом ішемії. В групі контрольної патології латентний період входу до небезпечної темної камери та кількість тварин, що досягли критерію навченості, вірогідно зменшились (табл. 2). Позитивна дія АРІЛ-1 підтверджується достовірним збільшенням латентного періоду входу до темної камери порівняно з показником групи контрольної патології при тестуванні УРПУ. У 71,4% мишей, яким вводили АРІЛ-1, зберігся критерій навченості, що вірогідно перевищує показник нелікованих тварин. Пірацетам займає проміжну позицію. Результати цих дослідів вказують на чітко виражені ноотропні (позитивні мнемотропні) властивості АРІЛ-1. Варто зазначити, що його доза у 13 разів нижча за дозу пірацетаму, тобто АРІЛ-1 є більш активним церебропротектором.

Отже, на оригінальній жорсткій моделі глобальної гравітаційної церебральної ішемії показано, що профілактичне застосування

Таблиця 2

Показники церебропротекторної дії антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 і пірацетаму в мишей, що перенесли глобальну гравітаційну церебральну ішемію, n = 28

Показники	Інтактний контроль (n=7)	Контрольна патологія (n=7)	АРІЛ-1, 15 мг/кг (n=7)	Пірацетам, 200 мг/кг (n=7)
Неврологічний статус у постішемічному періоді (стрижень, що обертається)				
Кількість мишей, що впали, абс./%:				
до 30 с	0 / 0	3 / 42,9*	0 / 0**	1 / 14,3
до 1 хв	0 / 0	4 / 57,1*	1 / 14,3**	3 / 42,9*
до 5 хв	0 / 0	5 / 71,4*	2 / 28,6*/**	4 / 57,1*
до 10 хв	1 / 14,3	6 / 85,7*	4 / 57,1*	6 / 85,7*
Збереженість пам'ятного сліду через 24 год після ішемії (тест УРПУ)				
Латентний час входу до темної камери, с	172±5,21	127±13,0*	166±11,2**	133±14,9 *
Кількість мишей, що досягли критерію навченості, абс. / %	5 / 71,4	2 / 28,6*	5 / 71,4**	3 / 42,9

Примітка. Достовірні відмінності (p<0,05): * — з інтактним контролем, ** — з контрольною патологією.

АРІЛ-1 вірогідно збільшує виживаність мишей і забезпечує більш сприятливий перебіг реабілітаційного періоду. Останнє вперше доведено за критеріями покращення м'язового тонусу та координації рухів і зменшення когнітивного дефіциту в постішемічному періоді. Результати свідчать про перспективність гальмування рецепторів ІЛ-1 як механізму церебропротекції при ішемії головного мозку. До шляхів реалізації церебропротекторної дії АРІЛ-1, імовірно, можуть долучатися покращення кровопостачання головного мозку, його енергетичного та пластичного метаболізму, нейромедіаторних процесів, протидія апоптозу, що потребує перевірки та є завданням подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. Виживаність мишей із моделлю глобальної церебральної ішемії гравітаційного генезу під впливом АРІЛ-1 (на відміну від пірацетаму) вірогідно зростає вдвічі.

2. АРІЛ-1 краще за пірацетам покращує м'язовий тонус і координацію рухів тварин, які були порушені під дією гострої церебральної ішемії.

3. АРІЛ-1 краще за пірацетам відновлює пам'ять тварин, порушену під впливом церебральної ішемії.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активних веществ. — М.: Медицина, 1974. — 143 с.*
2. *Головенко М.Я. Експериментальне вивчення ноотропної активності фармакологічних сполук: Метод. рекоменд. — К.: Авщенна, 2002. — 27 с.*
3. *Єсєва О.А., Штриголь С.Ю., Мерзлікін С.І. //Фармаком. — 2009. — №2. — С. 110-113.*
4. *Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. — С.Пб.: ООО "Издательство Фолиант", 2008. — 552 с.*
5. *Пат. UA 31373 на корисну модель МПК (2006) А 61 К 35/66. Застосування антагоніста рецепторів інтерлейкіну-І як засобу церебропротекторної дії / Е.В.Супрун, С.Ю.Штриголь, О.М.Іщенко, О.С.Супрун. — № u200711672. Заявл.: 22.10.2007. Опубл.: 10.04.2008. — Бюл. №7. — 3 с.*
6. *Пат. UA 33367 на корисну модель МПК G 09 B 23/28 (2008.1). Спосіб моделювання глобальної церебральної ішемії у мишей / С.Ю.Штриголь, В.С.Штриголь, О.А.Єсєва, В.О.Тіманюк. — №u200714635. Заявл.: 24.12.2007. Опубл.: 25.06.2008. — Бюл. №12. — 3 с.*
7. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: ИИА "Ремедиум", 2000. — 398 с.*
8. *Супрун Е.В., Штриголь С.Ю., Іщенко О.М. //Клінічна фармація — 2009. — №1. — С. 59-63.*
9. *Штриголь С.Ю., Штриголь В.С., Єсєва О.А., Тіманюк В.О. //Клінічна фармація. — 2008. — Т. 12, №2. — С. 39-43.*
10. *Fogal B., Li J., Lobner D. et al. //J. Neurosci. — 2007. — №27. — P. 10094-10105.*
11. *Martin D., Chinookoswong N., Miller G. //Exp. Neurol. — 1994. — №130. — P. 362-367.*
12. *McColl B.W., Rothwell N.J., Allan S.M. //J. Neurosci. — 2008. — №28. — P. 9451-9462.*
13. *McColl W.B., Rothwell N.J., Allan S.M. //J. Neurosci. — 2007. — №27. — P. 4403-4412.*
14. *Parry-Jones A.R., Liimatainen T., Kauppinen R.A. et al. //Magn. Reson. Med. — 2008. — №59. — P. 1239-1249.*
15. *Touzani O., Boutin H., Chuquet J. et al. //J. Neuroimmunol. — 1999. — №100. — P. 203-215.*

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-69.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 01.09.2010 р.