

Церебропротекторні властивості рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на моделі закритої черепно-мозкової травми

К.Г.Щокіна, С.Ю.Штриголь, О.М.Іщенко

Національний фармацевтичний університет, НДІ особливо чистих біопрепаратів
Харків, Україна, Санкт-Петербург, Росія

У сучасних умовах черепно-мозкова травма є однією з поширених патологій. Привертає увагу спроба розв'язання цієї задачі шляхом блокади рецепторів інтерлейкіну-1. У статті наведені результати дослідження впливу рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на стан тварин після закритої черепно-мозкової травми. Визначено, що антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 краще за пірацетам сприяє відновленню рухової активності тварин в умовах найгострішого періоду експериментальної черепно-мозкової травми. На тлі застосування антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 відновлення показників функціонального стану ЦНС (м'язовий тонус і координація рухів, рухова і дослідницька активність, емоційні реакції) у реабілітаційному періоді черепно-мозкової травми відбувається краще, ніж під впливом пірацетаму.

Ключові слова: інтерлейкін-1, антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1, експериментальна черепно-мозкова травма, церебропротекторна дія.

ВСТУП

У сучасних умовах черепно-мозкова травма (ЧМТ) є однією з поширених патологій. Її частота коливається від 180 до 220 на 100 тис. населення. При тяжкій ЧМТ до 30-50% пацієнтів вмирають, а значна частка тих, хто вижив, залишаються інвалідами [8, 10, 13]. Існуючі лікувальні технології часто є малоефективними. Тому пошук нових засобів корекції ЧМТ являє собою актуальну задачу медицини та фармації [1, 5, 11].

Привертає увагу спроба розв'язання цієї задачі шляхом блокади рецепторів інтерлейкіну-1 (ІЛ-1). У патогенезі ураження головного мозку бере участь підвищення продукції прозапальних цитокінів, у тому числі ІЛ-1 [3, 6, 14-16]. На моделі порушення мозкового кровообігу за ішемічним типом виявлено значні церебропротекторні властивості оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 (АРІЛ-1), а саме збільшення виживання, зменшення набряку головного мозку та неврологічного дефіциту, редукція проявів церебродікардіального синдрому за даними ЕКГ [7, 9]. Виникає питання щодо оцінки ефективності використання АРІЛ-1 при травматичному ураженні ЦНС, що визначило відповідну мету даного дослідження.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Використано АРІЛ-1, який отримано в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП методом генної інженерії. Експеримент виконано на 18 білих безпородних щурах самцях масою 150-230 г. Тварини були розподілені методом випадкового вибору на три групи по 6 у кожній. 1 група – контрольна (отримувала ізотонічний розчин NaCl). Щурам 2 групи за 30 хв. до моделювання ЧМТ вводили підшкірно АРІЛ-1 у дозі 15 мг/кг (саме ця доза чинить найбільшу церебропротекторну дію на моделі церебральної ішемії) [7, 9]). Тваринам 3 групи вводили препарат порівняння пірацетам («Дарниця») у дозі 200 мг/кг внутрішньоочеревинно. Закрити ЧМТ середньої тяжкості моделювали під легким ефірним наркозом (безпосередньо після настання бокового положення тварини) за методом Я.Буреш та співавт. [2, 4] шляхом дозованого удару по тім'яно-потиличній ділянці вантажем масою 0,0495 кг з енергією 0,315 Дж

ТАБЛИЦЯ 1
Час відновлення рухової активності після моделювання ЧМТ під легким ефірним наркозом під впливом АРІЛ-1 і пірацетаму (n=6)

Група	Час відновлення рухової активності, с	
	Початок	Повне відновлення
Контрольна патологія (ЧМТ)	204,0±46,9	360,0±69,0
АРІЛ-1+ЧМТ	29,2±6,5* #	85,8±12,9* #
Пірацетам+ЧМТ	196,0±39,4	335,0±72,3

Примітки: * – вірогідні відмінності за критерієм Ст'юдента в порівнянні з контролем ($p<0,05$); # – вірогідні відмінності за критерієм Ст'юдента в порівнянні з групою пірацетаму ($p<0,05$).

у спеціальному пристрої. За 1 год. до моделювання ЧМТ у щурів визначали вихідний функціональний стан ЦНС за тестами відкритого поля та стрижня, що обертається зі швидкістю 10 об./хв. Це дозволяло кількісно оцінити локомоторну та дослідницьку активність тварин, емоційні реакції та їх вегетативний супровід, стан м'язового тону та координації рухів. Безпосередньо після нанесення ЧМТ визнача-

ли час відновлення рухової активності тварин. Через 24 год. повторно виконували тести відкритого поля та стрижня, що обертається. Це дозволяло оцінити динаміку стану ЦНС.

Кількісні дані обробляли статистично з використанням t-критерію Ст'юдента, парного критерію Вілкоксона та кутового перетворення Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ЧМТ середньої тяжкості не спричинила загибелі тварин. Як свідчать дані табл. 1, відновлення рухової активності відбувалось у різних групах неоднаково. На тлі АРІЛ-1 початок спонтанних рухів та повне відновлення локомоторної активності спостерігалось значно раніше, ніж у групах контролю або пірацетаму. До того ж пірацетам майже не прискорював цей процес.

Під впливом ЧМТ в усіх групах погіршились результати тесту відкритого поля (табл. 2). Ці показники характеризують горизонтальний та вертикальний компоненти рухової активності (відповідно кількість перетнутих

ТАБЛИЦЯ 2
Показники тесту відкритого поля (за 3 хв.) до та через 24 год. після моделювання ЧМТ під впливом АРІЛ-1 і пірацетаму (n=6)

Показники		Контрольна патологія (ЧМТ)	АРІЛ-1+ЧМТ	Пірацетам+ЧМТ
Кількість перетнутих квадратів	до	14,2±4,2	25,0±2,6	20,3±8,1
	після	3,5±2,2*	19,3±3,5*	7,3±3,8*
	зміни, %	-75,4	-22,8	-63,9
Кількість вертикальних стійок	до	3,0±1,6	9,2±0,8	4,0±1,5
	після	1,0±0,3	5,7±2,1*	2,2±1,3*
	зміни, %	-66,7	-38,0	-46,0
Кількість обстежених отворів	до	8,3±2,2	7,0±0,6	7,2±2,6
	після	2,0±0,8*	4,5±1,0*	3,5±1,3*
	зміни, %	-76,0	-35,7	-51,1
Кількість актів грумінгу	до	1,0±0,3	2,0±0,2	1,0±0,3
	після	0,7±0,3	2,2±0,6	0,7±0,3
	зміни, %	-33,0	+10	-33,0
Кількість фекальних болосів	до	0,8±0,3	0,5±0,3	1,2±0,3
	після	0,5±0,3	1,0±0,5	0,8±0,2
	зміни, %	-39,8	+100	-29,1
Кількість уринацій	до	0,5±0,2	0,2±0,2	0,2±0,2
	після	0,2±0,2	0,3±0,2	0,2±0,2
	зміни, %	-66,0	+50,0	±0
Сума всіх видів активності	до	27,8±7,7	43,8±4,8	33,8±8,0
	після	7,8±2,6*	33,3±5,8*	14,7±6,3*
	зміни, %	-71,8	-24,0	-56,6

Примітка: * – вірогідні відмінності з вихідним станом за парним критерієм Вілкоксона ($p<0,05$).

ТАБЛИЦЯ 3

Вплив АРІЛ-1 та пірацетаму на м'язовий тонус і координацію рухів у щурів із ЧМТ за тестом стрижня, що обертається (n=6)

Кількість тварин, що не втрималися на стрижні		Контрольна патологія (ЧМТ)	АРІЛ-1+ЧМТ	Пірацетам+ЧМТ
Вихідний стан	до 30 с	0/6 (0%)	0/6 (0%)	1/6 (16,7%)
	до 1 хв.	3/6 (50%)	0/6 (0%)* #	3/6 (50%)
Через 24 год. після ЧМТ	до 30 с	3/6 (50%)	0/6 (0%)* #	2/6 (33,3%)
	до 1 хв.	3/6 (50%)	2/6 (33,3%)	4/6 (66,7%)

Примітки: * – вірогідні відмінності відносно контролю ($p < 0,01$); # – відносно пірацетаму ($p < 0,05$) за кутовим перетворенням Фішера.

квадратів і вертикальних стійок), дослідницьку активність (кількість обстежених отворів), прояви емоційності (грумінг) та вегетативний супровід емоційних реакцій (дефекації та уринації). Найбільші порушення спостерігались у контрольній групі, найменші – у групі АРІЛ-1. Так, сума всіх видів активності в контролі зменшилась у середньому на 71,8% від вихідного рівня, під впливом пірацетаму – на 56,6%, під дією АРІЛ-1 – лише на 24,0% (табл. 2). Ці дані свідчать, що АРІЛ-1 краще за пірацетам коригує неврологічний дефіцит, який спричинила ЧМТ.

Неоднаковою була також динаміка м'язового тону та координації рухів. Як видно з табл. 3, у контрольній групі та на тлі пірацетаму кількість щурів, які не втрималися на стрижні після ЧМТ, була максимальною та не мала вірогідних відмінностей між собою. Під впливом АРІЛ-1 через 24 год. після ЧМТ всі тварини втрималися на стрижні більше 30 с, що вірогідно перевершує показник контрольної групи та свідчить про збереженість нормального м'язового тону та координації рухів.

Таким чином, на моделі ЧМТ середньої тяжкості у щурів уперше показано, що профілактичне застосування АРІЛ-1 покращує перебіг відновного перебігу тварин краще за відомий ноотропний і церебропротекторний засіб пірацетам. Про це свідчить значно більш швидке відновлення рухової активності після нанесення ЧМТ, менший ступінь пригнічення рухової та дослідницької активності за тестом відкритого поля через добу після ЧМТ та відсутність пригнічення емоційних реакцій у цьому тесті. Крім того АРІЛ-1 на відміну від пірацетаму дещо покращує м'язовий тонус і координацію рухів за тестом стрижня, що обертається. Ці результати свідчать про перспективність блокади рецепторів ІЛ-1 як одного з механізмів церебропротекції при травматичному ураженні головного мозку. Церебропротекторна дія АРІЛ-1, ймовірно, може відбуватися за рахунок покращення кровопостачання голо-

вного мозку та його енергетичного та пластичного метаболізму, впливу на нейромедіаторні процеси, протинабрякової активності, гальмування апоптозу. Верифікація цих механізмів є завданням подальших досліджень церебропротекторного ефекту АРІЛ-1. Варто відмітити, що АРІЛ-1 зменшує пригнічувальний вплив алкоголю на ЦНС [12], що важливо в контексті теми даного дослідження, адже більшість випадків ЧМТ трапляється саме у стані алкогольного сп'яніння.

ВИСНОВКИ

1. АРІЛ-1 краще за пірацетам сприяє відновленню рухової активності тварин в умовах найгострішого періоду експериментальної ЧМТ.
2. На тлі застосування АРІЛ-1 відновлення показників функціонального стану ЦНС (м'язовий тонус і координація рухів, рухова і дослідницька активність, емоційні реакції) у реабілітаційному періоді ЧМТ відбувається краще, ніж під впливом пірацетаму.

Література

1. Рациональная нейропротекция / И.Ф.Беленичев, В.И.Черный, Ю.М.Колесников [и др.]. – Донецк: Издатель А.Ю.Заславский, 2009. – 262 с.
2. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: пер. с англ. Е.Н.Живопоисцевой / Я.Буреш, О.Бурешова, Д.П.Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
3. Верещагин Е.И. Современные возможности нейропротекции при острых нарушениях мозгового кровообращения и черепно-мозговой травме (обзор литературы) / Е.И.Верещагин // Журнал интенсивной терапии. – 2006. – №3. – С. 4-28.
4. Ельський В.Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В.Н.Ельський, С.В.Зяблицев. – Донецк: Новый мир, 2008. – 140 с.
5. Емельянов А.Ю. Неврология острой черепно-мозговой травмы / А.Ю.Емельянов // Неврология. – 2007. – №3. – С. 67-79.
6. Кетлинский С.А. Цитокины / С.А.Кетлинский, А.С.Симбирцев. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.

7. Патент UA 31373 на корисну модель МПК (2006) А61К 35/66. Застосування антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 як засобу церебропротекторної дії / Е.В.Супрун, С.Ю.Штриголь, О.М.Ищенко, О.С.Супрун. — №u200711672; Заявл. 22.10.2007; Опубл. 10.04.2008; Бюл. №7. — 3 с.
8. Современные рекомендации по диагностике и лечению тяжелой черепно-мозговой травмы / А.А.Потапов, В.В.Крылов, Л.Б.Лихтерман [и соавт.] // Вопросы нейрохирургии. — 2006. — №1. — С. 124-147.
9. Супрун Е.В. Церебро- та кардіопротекторна дія антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на моделі перебральної ішемії у щурів / Е.В.Супрун, С.Ю.Штриголь, О.М.Ищенко // Клінічна фармація — 2009. — №1. — С. 59-63.
10. Царенко С.В. Нейрореаниматология. Интенсивная терапия ЧМТ / С.В.Царенко. — М.: Медицина, 2006. — 328 с.
11. Ишемия головного мозга в медицине критических состояний. Нейропротекция (патофизиология, терминология, характеристика препаратов): Метод. рек. / В.И.Черный, А.Н.Колесников, Г.А.Городник. — К., 2007. — 72 с.
12. Щокіна К.Г. Експериментальне дослідження антиалкогольної дії антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1) / К.Г.Щокіна, С.Ю.Штриголь // Український вісник психоневрології. — 2009. — Т.17, вип.2 (59). — С. 105-107.
13. Bramlett Н.М. Патофизиология ишемического и травматического поражения мозга: сходства и различия / Н.М.Bramlett, W.D.Dietrich // Медицина неотложных состояний. — 2006. — №4 (5), №5 (6). — С. 36-43.
14. System xc activity and astrocytes are necessary for interleukin-1{beta}-mediated hypoxic neuronal injury / В. Fogal, J.Li, D.Lobner [et al.] // J. Neurosci. — 2007. — №27. — P. 10094-10105.
15. Interleukin-1 exacerbates focal cerebral ischemia and reduces ischemic brain temperature in the rat / A.R.Parry-Jones, T.Liimatainen, R.A.Kauppinen [et al.] // Magn. Reson. Med. — 2008. — №59. — P. 1239-1249.
16. Potential mechanisms of interleukin-1 involvement in cerebral ischaemia / O.Touzani, H.Boutin, J.Chuquet [et al.] // J. Neuroimmunol. — 1999. — №100. — P. 203-215.

Е.Г.Щекіна, С.Ю.Штриголь, А.М.Ищенко.
Церебропротекторные свойства рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 на модели закрытой черепно-мозговой травмы. Харьков, Украина, Санкт-Петербург, Россия.

Ключевые слова: интерлейкин-1, антагонист рецепторов интерлейкина-1, экспериментальная черепно-мозговая травма, церебропротекторное действие.

В современных условиях черепно-мозговая травма является одной из распространенных патологий. Привлекает внимание возможность решить эту задачу путем блокады рецепторов интерлейкина-1. В статье приведены результаты исследования влияния рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 на состояние животных после черепно-мозговой травмы. Установлено, что антагонист рецепторов интерлейкина-1 эффективнее пирацетама способствует восстановлению двигательной активности животных в условиях острого периода экспериментальной черепно-мозговой травмы. На фоне применения антагониста рецепторов интерлейкина-1 восстановление показателей функционального состояния ЦНС (мышечный тонус и координация движений, двигательная и исследовательская активность, эмоциональные реакции) в реабилитационном периоде черепно-мозговой травмы происходит лучше, чем под влиянием пирацетама.

E.G.Shchekina, S.Y.Shtrygol, A.M.Ischenko.
Cerebroprotective properties of recombinant receptor antagonist of interleukin-1 on the model of closed craniocerebral trauma. Kharkiv, Ukraine, St. Petersburg, Russia.

Key words: interleukin-1, receptor antagonist of interleukin-1, experimental craniocerebral trauma, cerebroprotective action.

In modern conditions, craniocerebral trauma is one of the most common pathologies. Our attention attracts the possibility to solve this problem by blockade of receptors of interleukin-1. In the article authors presents the results of studies of the effect of recombinant human receptor antagonist of interleukin-1 status of animals after closed craniocerebral trauma. It was found that receptor antagonist of interleukin-1 more effective compared with piracetam restores motor activity of animals in the acute period of experimental craniocerebral trauma. On a background of receptor antagonist of interleukin-1 using the recovery in the functional state of central nervous system (muscle tone and motor coordination, motor and research activity, emotional reaction) in craniocerebral trauma rehabilitation period is better than under the influence of piracetam.

Надійшла до редакції 23.06.2010 р.