

Вплив антагоністу рецепторів інтерлейкіну-1 на мозковий та нирковий кровоток в умовах модельної ішемії

К.Г.Щокіна

Національний фармацевтичний університет
Харків, Україна

Рекомбінантний рецепторний антагоніст інтерлейкіну-1 не впливає на базальний кровоток у внутрішній сонній артерії щурів, але поліпшує кровопостачання головного мозку з даного басейну при білатеральній каротидній оклюзії із подальшою реперфузією. Рекомбінантний рецепторний антагоніст інтерлейкіну-1 не впливає на кровоток у нирковій артерії інтактних щурів, тобто не володіє ішемічною дією, але послаблює порушення кровотоку та відновлює швидкість ниркового кровотоку в умовах реперфузії після моделювання ішемічної гострої ниркової недостатності, перевищуючи дію препарату порівняння мексидолу.

Результати слугують експериментальним обґрунтуванням доцільності подальшого вивчення антагоністу рецепторів інтерлейкіну-1 як потенційного церебропротектора при ішемії головного мозку та нефропротектора при реперфузії при ішемічній гострій нирковій недостатності.

Ключові слова: АРІЛ-1, білатеральна каротидна оклюзія, ішемічна гостра ниркова недостатність.

ВСТУП

Поліпшення лікування порушень мозкового кровотоку (ПМК) та гострої ниркової недостатності (ГНН) є одними з найактуальніших медичних проблем [8, 17]. Важливе значення в патогенезі ПМК і ГНН посідає ішемія [9]. Саме ішемія при ПМК сприяє виникненню надчутливості тканин мозку до нестатку кисню та глюкози та є основною причиною розвитку гострого канальцевого некрозу з наступною ГНН [2, 18].

Існує багато підходів до розуміння механізмів розвитку ПМК та ГНН, проте часто вони залишаються нез'ясованими [15]. Останнім часом закономірно зростає інтерес до цитокінових механізмів ішемічних пошкоджень головного мозку та нирок у клініці та в експерименті. Значне місце в них посідає інтерлейкін-1 (ІЛ-1), швидка експресія якого зумовлює лейкоцитарну інфільтрацію, нейротоксичність, індукує апоптоз [8, 9, 13, 20]. Існує чимало свідчень ролі рецепторних антагоністів ІЛ-1 у корекції цереброваскулярних порушень [3, 10].

Патологічні зміни в паренхимі нирок теж пов'язані з активацією прозапальних цитокінів, які є вирішальними факторами ішемічно-реперфузійних ушкоджень та запальних процесів при ГНН [11, 15, 19, 21]. Припускається, що антицитокінова терапія здатна поліпшувати нирковий кровоток, знижувати тяжкість гемодинамічних порушень при ГНН, а також попереджувати розвиток системної запальної відповіді [5, 16, 18]. Накопичуються дані щодо перспективності використання антицитокінових препаратів у терапії ГНН [12, 14].

Таким чином, оскільки доведена важлива роль ІЛ-1 у розвитку ПМК та ГНН, але потребує уточнення ефективності антицитокінової терапії, метою дослідження було з'ясувати вплив антагоніста рецепторів ІЛ-1 на кровопостачання головного мозку в нормі та при порушеннях мозкового кровотоку і в нирковій артерії в умовах ішемічної гострої ниркової недостатності у щурів. Використано антагоніст рецепторів ІЛ-1 (АРІЛ-1), отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти виконано на білих щурах самця масою 200-220 г. У першій серії дослідів визначали динаміку кровопостачання го-

лового мозку при ішемії з подальшою реперфузією. АРІЛ-1 (Санкт-Петербурзький НДІ ОЧБП) в дозі 15 мг/кг, що чинить найбільший церебропротекторний ефект [3], вводили щодня внутрішньом'язово протягом 3 діб, востаннє за 30-40 хв. до моделювання ПМК. ПМК за ішемічним типом у передньомозковому басейні відтворювали під наркозом (кетамін, 50 мг/кг внутрішньоочеревинно) шляхом БКО [4].

Для цього препарували судини, підводили провізорні лігатури, накладали датчик ультразвукового флоуметра Т-106 (Transonic Systems Inc., США) на ліву внутрішню сонну артерію. Після стабілізації гемодинаміки вимірювали базальний кровобіг, перев'язували праву загальну сонну артерію і накладали мініатюрний затискач на ліву загальну сонну артерію на 40 хв., що повністю припиняло кровопостачання головного мозку з каротидного басейну. Через 40 хв. знімали затискач і визначали кровобіг у лівій внутрішній сонній артерії в динаміці реперфузії протягом 60 хв. В якості препарату порівняння взято вінпоцетин («Кавінтон», «Gedeon Richter», Угорщина) в дозі 5 мг/кг внутрішньоочеревинно в такому ж режимі, як АРІЛ-1, оскільки він значно впливає на кровопостачання головного мозку [4].

В другій серії препаратом порівняння обрано мексидол («Мексидол», НВК «Фармасофт», Росія) [1]. Досліджувані препарати (АРІЛ-1 в дозі 3 мг/кг, мексидол — 100 мг/кг) вводили внутрішньоочеревинно протягом 3 діб, востаннє за 1 год. до досліду [4, 6]. Контрольні тварини отримували відповідну кількість ізотонічного

розчину натрію хлориду. Під наркозом (кетамін, 50 мг/кг внутрішньоочеревинно) на ліву ниркову артерію накладали датчик ультразвукового флоуметра Т-106 (Transonic Systems Inc., США), після стабілізації показників вимірювали вихідне кровопостачання нирки. Залишаючи датчик на судині, на ліву ниркову ніжку накладали мініатюрний затискач на 75 хв. і шляхом повного припинення кровообігу відтворювали тяжку ішемічну ниркову недостатність [6]. Після зняття затискача протягом 60 хв. визначали кровообіг у нирковій артерії в динаміці реперфузії, починаючи з п'ятої хвилини.

При обліку результатів у вигляді середня \pm стандартна помилка середньої статистичну значущість міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента, внутрішньогрупових — за парним критерієм Вілкоксона.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ані АРІЛ-1, ані вінпоцетин не впливали на базальний кровобіг у внутрішній сонній артерії. Показники відповідних груп не мали значущих відмінностей від такого в контролі, коливаючись в межах 6-7% (табл. 1). Реперфузія головного мозку після 40 хв. ішемії в досліджуваних групах мала суттєві відмінності. У контролі швидкість кровообігу у внутрішній сонній артерії зменшилася відносно базального рівня в середньому більше ніж на 50%. На тлі АРІЛ-1 або вінпоцетину кровопостачання відновлювалося вірогідно краще: зменшення становило

ТАБЛИЦЯ 1

Вплив АРІЛ-1 на кровобіг у внутрішній сонній артерії за умов ішемії-реперфузії головного мозку у щурів, $M \pm m$

Час спостереження	Контроль (n=7)		АРІЛ-1, 15 мг/кг (n=7)		Вінпоцетин, 5 мг/кг (n=7)	
	мл/хв.	зміни, %	мл/хв.	зміни, %	мл/хв.	зміни, %
Вихідний стан						
Перший вимір	6,80 \pm 0,25	–	6,34 \pm 0,15	–	6,46 \pm 0,22	–
5 хв.	6,77 \pm 0,22	–	6,39 \pm 0,15	–	6,46 \pm 0,17	–
10 хв.	6,83 \pm 0,22	базальний (100%)	6,43 \pm 0,17	базальний (100%)	6,36 \pm 0,22	базальний (100%)
Ішемія 40 хв. із подальшою реперфузією						
5 хв.	3,33 \pm 0,11*	–51,2 \pm 0,7	5,26 \pm 0,17**	–17,7 \pm 0,6 [#]	5,81 \pm 0,27*	–8,7 \pm 1,68 ^{#^}
10 хв.	3,21 \pm 0,08*	–52,8 \pm 0,8	5,23 \pm 0,14**	–18,1 \pm 0,9 [#]	5,67 \pm 0,26*	–11,0 \pm 1,33 ^{#^}
20 хв.	3,20 \pm 0,12*	–53,0 \pm 1,4	5,21 \pm 0,13**	–18,3 \pm 1,2 [#]	5,67 \pm 0,21*	–10,9 \pm 1,48 ^{#^}
30 хв.	3,11 \pm 0,07*	–53,6 \pm 1,2	5,23 \pm 0,15**	–18,1 \pm 0,8 [#]	5,69 \pm 0,20*	–10,6 \pm 1,70 ^{#^}
40 хв.	3,10 \pm 0,11*	–54,2 \pm 0,9	5,19 \pm 0,18**	–18,8 \pm 0,9 [#]	5,72 \pm 0,22*	–9,9 \pm 1,26 ^{#^}
60 хв.	3,19 \pm 0,11*	–53,3 \pm 0,4	5,16 \pm 0,18**	–19,2 \pm 0,8 [#]	5,64 \pm 0,26*	–11,4 \pm 1,90 ^{#^}

Примітка: статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * — з вихідним станом усередині групи (за парним критерієм Вілкоксона); # — із синхронним показником контрольної групи; ^ — із синхронним показником групи, що отримувала АРІЛ-1.

ТАБЛИЦЯ 2

**Вплив АРІЛ-1 на кровообіг у нирковій артерії
за умов ішемічної гострої ниркової недостатності у щурів, М±m**

Час спостереження	Контроль (n=7)		АРІЛ-1, 15 мг/кг (n=7)		Мексидол, 100 мг/кг (n=7)	
	мл/хв.	зміни, %	мл/хв.	зміни, %	мл/хв.	зміни, %
Вихідний стан						
–	5,23±0,14	–	5,37±0,10	–	5,09±0,10	–
Ішемія 75 хв. із подальшою реперфузією						
5 хв.	2,38±0,07*	–54,3±0,6	3,41±0,11**	–36,5±1,2#	2,56±0,08^	–49,7±1,4#^
10 хв.	2,34±0,07*	–55,0±0,6	3,54±0,10**	–34,1±1,1#	2,60±0,07*#^	–48,9±1,4#^
15 хв.	2,38±0,11*	–54,5±1,1	3,73±0,12**	–30,7±1,4#	2,86±0,08*#^	–43,7±2,0#^
20 хв.	2,40±0,11*	–54,2±1,1	3,89±0,11**	–27,7±0,9#	3,09±0,11*#^	–39,3±2,0#^
30 хв.	2,45±0,10*	–53,1±1,1	4,04±0,11**	–24,8±1,3#	3,66±0,12*#^	–36,5±2,1#^
40 хв.	2,46±0,10*	–53,8±0,9	4,27±0,08**	–20,8±0,7#	3,30±0,12*#^	–35,1±2,0#^
50 хв.	2,47±0,08*	–52,8±0,8	4,24±0,07**	–21,0±0,6#	3,30±0,14*#^	–35,1±2,7#^
60 хв.	2,46±0,11*	–53,0±1,0	4,24±0,07**	–21,0±0,7#	3,27±0,12*#^	–35,7±2,4#^

Примітка: статистично значущі відмінності (p<0,05): * – з вихідним станом усередині групи; # – із синхронним показником контрольної групи; ^ – із синхронним показником групи, що отримувала АРІЛ-1.

відповідно 18-19% і 9-11% (p<0,001 порівняно з контролем). Відносно зменшення в групі вінпоцетину було мінімальним, проте абсолютна швидкість кровообігу в групах АРІЛ-1 і вінпоцетину не мала статично значущих відмінностей (табл. 1).

Отже, при ПМК блокада рецепторів ІЛ-1 впливає на стан судин, сприяючи посиленню кровопостачання головного мозку після усунення судинної оклюзії майже на рівні вінпоцетину. Очевидно, цей механізм церебропротекції при ішемії головного мозку можна вважати первинним. З попередніх досліджень відомо, що поряд із цим АРІЛ-1 поліпшує стійкість до гіпоксії неішемічного генезу [8].

Ані АРІЛ-1, ані мексидол не впливали на швидкість ниркового кровообігу. Показники відповідних груп не мали значущих відмінностей від такого в контролі, коливаючись в межах 3% (табл. 2). Це свідчить про те, що АРІЛ-1 не пригнічує нирковий кровообіг у інтактних тварин, тобто не виявляє ішемічних властивостей.

Після відтворення ішемічної ГНН у всіх лабораторних тварин спостерігалась реперфузія, але її вираженість мала суттєві відмінності в різних групах тварин.

В результаті ішемії в контролі швидкість ниркового кровообігу знизилася в середньому на 53% та сберігалася на цьому рівні протягом дослідження (60 хв.). Під дією АРІЛ-1 швидкість кровотоку через 5 хв. після ішемії знизилася лише на 36,5%, що достовірно нижче, ніж аналогічний показник у групі контрольної патології. Протягом наступних 55 хв. у тва-

рин групи АРІЛ-1 спостерігалось відновлення кровообігу, причому вже через 15 хв. зниження кровообігу достовірно відрізнялося від показника на початковому етапі після ішемії. Наприкінці дослідження зміни швидкості кровотоку у тварин у даній групі склали 21%. У щурів, що отримували мексидол, через 5 хв. після ішемії швидкість ниркового кровообігу знизилася на 49,7%, що поступається показникам групи тварин, які отримували АРІЛ-1, та достовірно не відрізняється від показника в групі контрольної патології. Але, на відміну від контрольних тварин, у групі мексидолу починаючи з 15 хв. спостерігалось зменшення вираженості реперфузії. Через 60 хв. після ішемії зниження швидкості кровообігу становило 35,7%, що достовірно відрізняється від показників груп АРІЛ-1 та контрольної патології (табл. 2).

Отже, при ішемічній ГНН блокада рецепторів ІЛ-1 впливає на стан судин, сприяючи відновленню ниркового кровообігу після усунення судинної оклюзії, перевершуючи при цьому дію мексидолу. У попередніх дослідженнях визначено, що АРІЛ-1 неоднозначно впливає на перебіг ішемічної ГНН у щурів [7]. З одного боку, він демонструє певні нефропротекторні властивості, а саме виявляє тенденцію до зменшення ранньої летальності тварин, попереджує анурію, запобігає зниженню ШКФ та підтримує екскрецію сечовини на першу добу ГНН, сприяє збереженню концентраційної функції нирок, зменшує набряк нирок, печінки та головного мозку. З іншого боку, він не забезпечує збереження цілісної структури нефрону.

Результати проведених досліджень дозволяють стверджувати, що негативні зміни стану ВФН при ГНН під дією АРІЛ-1 не викликані ішемічним впливом препарату. Негативні зміни при застосуванні АРІЛ-1, імовірно, можна пояснити його білковою природою та подразнювальною дією на структури нефрону [7]. А відновлення ниркового кровообігу в умовах реперфузії при ішемічній ГНН можна долучити до механізмів нефропротекції АРІЛ-1.

ВИСНОВКИ

1. Рекombінантний рецепторний антагоніст інтерлейкіну-1 (15 мг/кг) не впливає на базальний кровообіг у внутрішній сонній артерії щурів, але значно (майже в 3 рази) послаблює його зменшення при оклюзії обох загальних сонних артерій із подальшою реперфузією.

2. Рекombінантний рецепторний антагоніст інтерлейкіну-1 (15 мг/кг) не впливає на кровообіг у нирковій артерії інтактних щурів, тобто не володіє ішемічною дією, але в 1,5 разу послаблює порушення кровообігу та відновлює швидкість ниркового кровообігу (в 2,5 разу порівняно з групою контрольної патології) в умовах реперфузії після моделювання ішемічної ГНН. Препарат порівняння мексидол теж послаблює порушення ниркового кровотоку та сприяє його відновленню, але поступається АРІЛ-1 за вищезазначеними показниками.

3. Таким чином, блокада рецепторів ІЛ-1 сприяє посиленню кровопостачання головного мозку та відновленню ниркового кровообігу в умовах реперфузії і є перспективним напрямом протиішемічної терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Демченко Е.Ю. Метаболические эффекты мексидола в комплексной терапии хронической ишемии мозга / Е.Ю.Демченко, Н.В.Кулакова, Т.А.Семиглазова и др. // Эксперим. и клин. фармакология. — 2008. — Т. 71, №6. — С. 13-15.
2. Миронов Л.Л. Особенности интенсивной терапии острой почечной недостаточности у детей // Мед. неотл. сост. — 2005. — № 1. — С. 38-46.
3. 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.Іщенко, О.С.Супрун — №u200711672; заявл. 22.10.2007; опубл. 10.04.2008; Бюл. №7.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2000. — 398 с.
5. Соловьев А.Г. Роль ангиотензина и цитокинов в развитии почечной недостаточности в эксперименте и эффекты антицитокиновой терапии: автореф. дис. к.мед.н. — СПб, 2007. — 21 с.
6. Штриголь С.Ю. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: Методичні рекомендації / С.Ю.Штриголь, В.М.Лісовий, І.А.Зупанець, С.К.Шебеко та ін. — К., 2009. — 47 с.
7. Щокіна К.Г. Вплив рекombінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на перебіг експериментальної гострої ниркової недостатності / К.Г.Щокіна, О.В.Товчига, Синиця В.О., С.Ю.Штриголь // Український біофармацевтичний журнал. — 2010. — №6 (11). — С. 24-31.
8. Щокіна К.Г. Церебропротекторні властивості рекombінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на моделі закритої черепно-мозкової травми / К.Г.Щокіна, С.Ю.Штриголь, О.М.Іщенко // Укр. журнал клін. та лаб. медицини. — 2010. — Т. 5, №3. — С. 137-140.
9. Banwell V. Systematic review and stratified meta-analysis of the efficacy of interleukin-1 receptor antagonist in animal models of stroke / V.Banwell, E.S.Sena, M.R.Macleod // J. of Stroke and Cerebrovasc. Dis. — 2009. — Vol. 18, №4. — P. 269-276.
10. Basu A. The type 1 interleukin-1 receptor is essential for the efficient activation of microglia and the induction of multiple proinflammatory mediators in response to brain injury / A.Basu, J.K.Krady, M.O'Malley et al. // The J. of Neuroscience. — 2002. — Vol. 22 (14). — P. 6071-6082.
11. Carrero J., Park S. Cytokines, atherogenesis, and hypercatabolism in chronic kidney disease: a dreadful triad / J.Carrero, S.Park, J.Axelsson, B.Lindholm, P.Stenvinkel // Semin Dialys. — 2009. — №22 (4). — P. 381-386.
12. Faubel S. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1 β , IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney / S.Faubel, E.C.Lewis, L.Reznikov et al. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2007. — vol. 322, №1. — P. 8-15.
13. Friedewald J.J. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure / J.J.Friedewald, H.Rabb // Kidney International. — 2004. — vol. 66, №2. — P. 486-491.
14. Garcia J.H. Interleukin-1 receptor antagonist decreases the number of necrotic neurons in rats with middle cerebral artery occlusion / J.H.Garcia, K.F.Liu, J.K.Relton / J.H.Garcia // Amer. J. of Pathology. — 1995. — Vol. 147. — P. 1477-1486.
15. Jaber B. Cytokine gene promoter polymorphisms and mortality in acute renal failure / B.Jaber, M.Rao, D.Guo et al. // Cytokine. — 2004. — №25 (5). — P. 212-219.
16. Kengo Furuichi, Takashi Wada, Hitoshi Yokoyama, Kenichi Kobayashi. Role of Cytokines and Chemokines in Renal Ischemia-Reperfusion Injury // Drug News Perspect. — 2002. — №15 (8). — P. 477.
17. Liangos O. Cytokine single nucleotide polymorphism. Role in acute renal failure / O.Liangos, V.S.Balakrishnan, B.J.Pereira, B.L.J. aber // Contrib Nephrol. — 2004. — Vol. 144. — P. 63-75.
18. Luis-Ortega M. Role of cytokines in the pathogenesis of acute and chronic kidney disease, glomerulone-

- phritis, and end-stage kidney disease / M.Luis-Ortega, Alessia Fornoni // *Int. Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research*. — 2010. — №2. — P. 49-62.
19. Segerer S. Role of chemokines for the localization of leukocyte subsets in the kidney / S.Segerer, D.Schlondorff // *Semin Nephrol*. — 2007. — №27. — P. 260-274.
20. Simi A. Interleukin-1 and inflammatory neurodegeneration / A.Simi, N.Tsakiri, P.Wang, N.J.Rothwell // *Biochem. Soc. Transactions*. — 2007. — Vol. 35, part 5. — P. 1122-1126.
21. Simmons E.M. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure / E.M.Simmons, J.Himmelfarb, M.T.Sezer et al. // *Kidney International*. — 2004. — vol. 65, №4. — P. 1357-1365.

Е.Г.Щекина. Влияние антагониста рецепторов интерлейкина-1 на мозговой и почечный кровотоки в условиях модельной ишемии. Харьков, Украина.

Ключевые слова: АРИЛ-1, билатеральная каротидная окклюзия, ишемическая острая почечная недостаточность.

Рекомбинантный рецепторный антагонист интерлейкина-1 не влияет на базальный кровоток во внутренней сонной артерии крыс, но улучшает кровоснабжение головного мозга из данного бассейна при билатеральной каротидной окклюзии с последующей реперфузией. Рекомбинантный рецепторный антагонист интерлейкина-1 не влияет на кровоток в почечной артерии интактных крыс, то есть не обладает ишемическим действием, но ослабляет нарушения кровотока и восстанавливает скорость почечного кровообращения в условиях ре-

перфузии после моделирования ишемической острой почечной недостаточности (ОПН), превышая действие препарата сравнения «Мексидол».

Результаты служат экспериментальным обоснованием целесообразности дальнейшего изучения антагониста рецепторов интерлейкина-1 как потенциального церебропротектора при ишемии головного мозга и нефропротектора при реперфузии при ишемической ОПН.

E.G.Shchokina. Recombinant antagonist interleukin-1 receptors impact on cerebral and renal blood flow in model ischemia. Kharkov, Ukraine.

Key words: ARIL-1, bilateral carotid occlusion, ischemic acute renal failure.

Recombinant receptor antagonist interleukin-1 has no effects on basal blood flow in the internal carotid artery of rats, but improves blood supply of the brain from the basin during bilateral carotid occlusion with subsequent reperfusion. Recombinant receptor antagonist interleukin-1 has no effect on blood flow in the renal artery of intact rats, that is, has no the effect of ischemic but weakens the impaired blood flow and restores the rate of renal blood flow in a model of ischemic reperfusion after acute renal failure (ARF), exceeding the effect of the drug compared mexidol.

The results provide experimental basis for further feasibility study of receptor antagonist of interleukin-1 as a potential cerebroprotector in cerebral ischemia and nephroprotector in reperfusion in ischemic acute renal failure.

Надійшла до редакції 16.10.2012 р.