

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ПРЕПАРАТА СВЕРХМАЛЫХ ДОЗ АНТИТЕЛ К S-100 В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Т.А.Воронина, И.А.Хейфец, Ю.Л.Дугина, С.А.Сергеева, О.И.Эпштейн

ООО “НПФ “Материа Медика Холдинг”, Москва

Сверхмалые дозы антител к S-100 увеличивают выживаемость крыс, снижают неврологический дефицит, устраняют миорелаксацию, улучшают координацию движений и когнитивные функции у крыс с экспериментальным геморрагическим инсультом, не уступая нимодипину. В отличие от нимодипина, сверхмалые дозы антител к S-100 обладают выраженными анксиолитическими свойствами.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, нимодипин, антитела к белку S-100, сверхмалые дозы

Геморрагический инсульт (ГИ) — наиболее тяжелый и инвалидизирующий вид инсульта, составляющий 10-15% от общего числа инсультов. Летальность при ГИ составляет 25-80%, причем 35-50% пациентов умирают в течение первых 30 сут после церебральной геморрагии (половина — в течение первых 2 сут) [3]. Лечение ГИ включает комплекс мероприятий, направленных, в первую очередь, на удаление гематомы и предотвращение развития отека мозга в первые часы после инсульта. В дальнейшем основной целью проводимой терапии является восстановление нарушенных функций мозга (с помощью нейропротекторных и ноотропных препаратов) и предотвращение вторичного инсульта (с помощью ангиопротекторов, блокаторов Ca²⁺-каналов, антиагрегантных препаратов и др.) [7]. Ранее показано, что антитела к белку S-100 в сверхмалых дозах (СМД анти-S100) обладают нейропротекторной активностью в условиях ишемического инсульта [4].

Целью настоящего исследования явилось изучение эффектов СМД анти-S100 в условиях экспериментальной модели ГИ.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

ГИ моделировали на беспородных белых крысах-самцах массой 200-250 г [2]. У крыс, наркотизированных нембуталом (40 мг/кг внутримышечно), удаляли мягкие ткани и надкостницу в теменно-

центральной области черепа. В левой гемисфере черепной кости на расстоянии 1.5-1.8 мм назад от брегмы и 2.5-3.0 мм в сторону от сагиттального шва просверливали отверстие диаметром 1 мм. В это отверстие на глубину 4 мм опускали мандрен и осуществляли деструкцию мозговой ткани в области внутренней капсулы с последующим (через 2-3 мин) введением в место повреждения крови, взятой из-под языка животного (0.02-0.03 мл). Согласно данным морфологических исследований при этом был достигнут локальный инсульт в области внутренней капсулы (диаметр — 2 мм, глубина — 3 мм) без существенных повреждений структур мозга, расположенных выше (в частности, неокортекса).

СМД анти-S100 (2.5 мл/кг), блокатор Ca²⁺-каналов нимодипин (0.1 мг/кг) или дистиллированную воду (2.5 мл/кг) вводили внутривенно в течение 14 сут. Первое введение осуществляли через 4 ч после моделирования ГИ. В качестве контроля использовали ложнопериоперированных животных, которым проводили скальпирование кожи в теменно-центральной области черепа и просверливали отверстие, не разрушая мозговых структур.

В течение 14 сут после операции оценивали выживаемость крыс; на 1, 3, 7 и 14-е сутки проводили тестирование неврологического и эмоционального статуса, мышечного тонуса, координации движений, а также когнитивных функций животных.

Неврологический дефицит оценивали по шкале McGrow (в модификации [1]). Подсчитывали количество крыс с легкой (0.5-2.5 балла) и тяжелой (3-10 баллов) неврологической симптоматикой.

Координацию движений у крыс изучали с помощью теста вращающегося стержня [6,9]. Неспособность животных удерживать равновесие в течение 2 мин на стержне диаметром 4 см, вращающемся со скоростью 3 об/мин, рассматривали как проявление нарушения координации движений. Для определения нарушений мышечного тонуса был использован тест подтягивания на горизонтальной перекладине, натянутой на высоте 20-30 см от пола [5].

Когнитивные функции крыс оценивали в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) [5,8]. Крысу помещали на ярко освещенную платформу (25×7 см) хвостом к квадратному отверстию (6×6 см), ведущему в камеру с электродным полом (40×40×40 см). Вследствие норкового рефлекса после нахождения входа в темную камеру крыса переходила в нее и проводила там большую часть времени. С момента помещения животного в экспериментальную камеру в течение 180 с регистрировали латентный период первого захода в затемненное отделение и суммарное время пребывания крысы в нем. По истечении этого времени в момент, когда крыса оказывалась

в темной камере, отверстие закрывали и наносили животному неизбежное электрошоковое раздражение (10 ударов с силой тока 0.45 мА, длительностью импульса 1 с, интервалом между импульсами 2 с).

Уровень тревожности крыс оценивали в поднятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) [5,6,11] в течение 5 мин по количеству заходов в открытые рукава и времени, проведенному в них.

Достоверность различий между группами определяли с помощью *t* критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальный ГИ приводил к гибели 50% животных к 14-м суткам после операции. СМД анти-S100 достоверно увеличивали выживаемость крыс (на 20%, $p < 0.05$) в отличие от нимодипина, чье влияние на выживаемость крыс было недостоверным.

ГИ приводил к возникновению неврологических нарушений у 100% крыс, миорелаксации — у 50% и нарушению координации движений — у 30% (таблица). В течение 14 сут тяжесть неврологического дефицита постепенно снижалась, однако симптомы легких (вялость движений, слабость конечностей) и тяжелых (манежные движения, парезы конечностей, параличи) нарушений

Влияние нимодипина и СМД анти-S100 на неврологический статус, миорелаксацию и координацию движений крыс после ГИ (%)

Показатель	Группа	Дни после операции			
		1-й	3-й	7-й	14-й
Тяжелые неврологические нарушения	Контроль	0	0	0	0
	ГИ+дистиллированная вода	44*	12	0	20
	ГИ+нимодипин	20	24	14	0
	ГИ+СМД анти-S100	30*	33*	14	14
Легкие неврологические нарушения	Контроль	60	40	20	20
	ГИ+дистиллированная вода	100*	100*	86*	60*
	ГИ+нимодипин	50*	50	43*	43*
	ГИ+СМД анти-S100	60	66	50*	43*
Животные, не подтянувшиеся на горизонтальной перекладине	Контроль	20	10	10	10
	ГИ+дистиллированная вода	30	50*	43*	50*
	ГИ+нимодипин	20	50*	71*	50*
	ГИ+СМД анти-S100	10	10*	24	25
Животные, не удержавшиеся на вращающемся стержне	Контроль	10	0	10	10
	ГИ+дистиллированная вода	30	25	29	20
	ГИ+нимодипин	20	25	43*	17
	ГИ+СМД анти-S100	9*	18	12	12

Примечание. $p < 0.05$ по сравнению с: *контролем, *группой ГИ+дистиллированная вода.

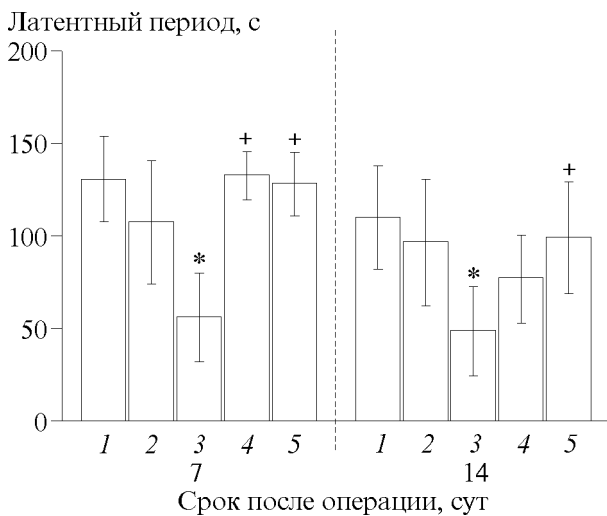


Рис. 1. Влияние нимодипина и СМД анти-S100 на когнитивные функции крыс после ГИ в тесте УРПИ. Здесь и на рис. 2: 1 — интактные; 2 — контроль; 3 — ГИ+дистиллированная вода; 4 — ГИ+нимодипин; 5 — ГИ+СМД анти-S100.
 $p < 0.05$ по сравнению с: * контролем, + группой ГИ+дистиллированная вода.

сохранялись у 60% и 20% крыс соответственно. И нимодипин, и СМД анти-S100 уменьшали неврологические проявления ГИ во все сроки исследования (таблица). На 14-е сутки после ГИ нимодипин и СМД анти-S100 снижали количество животных с легкими нарушениями в 1.4 и 1.8 раза ($p < 0.05$) соответственно; нимодипин полностью устранял тяжелые нарушения, СМД анти-S100 снижали их частоту в 1.5 раза. При этом, в отличие от нимодипина, СМД анти-S100 снижали также количество крыс с нарушениями координации движений и миорелаксацией в 1.7 и 2 раза соответственно ($p < 0.05$; таблица).

Через 7 и 14 сут после ГИ у крыс значительно (в 2 раза; $p < 0.05$) ухудшилось воспроизведение УРПИ, что свидетельствовало о развившихся нарушениях когнитивных функций. И нимодипин, и СМД анти-S100 полностью восстанавливали воспроизведение УРПИ на 7-е сутки, однако на 14-е сутки этот эффект сохранялся только у крыс, получавших СМД анти-S100 (рис. 1).

Кроме нейропротекторного действия препарат СМД анти-S100 обладал анксиолитическим эффектом: в тесте ПКЛ препарат не только устранял проявления тревожности животных, возникшие в результате ГИ, но и достоверно увеличивал время, проведенное в открытых рукавах, по сравнению с интактными животными в 1.6 раза ($p < 0.05$; рис. 2).

Таким образом, препарат СМД анти-S100 обладает способностью повышать выживаемость и устранять неврологические нарушения, возник-

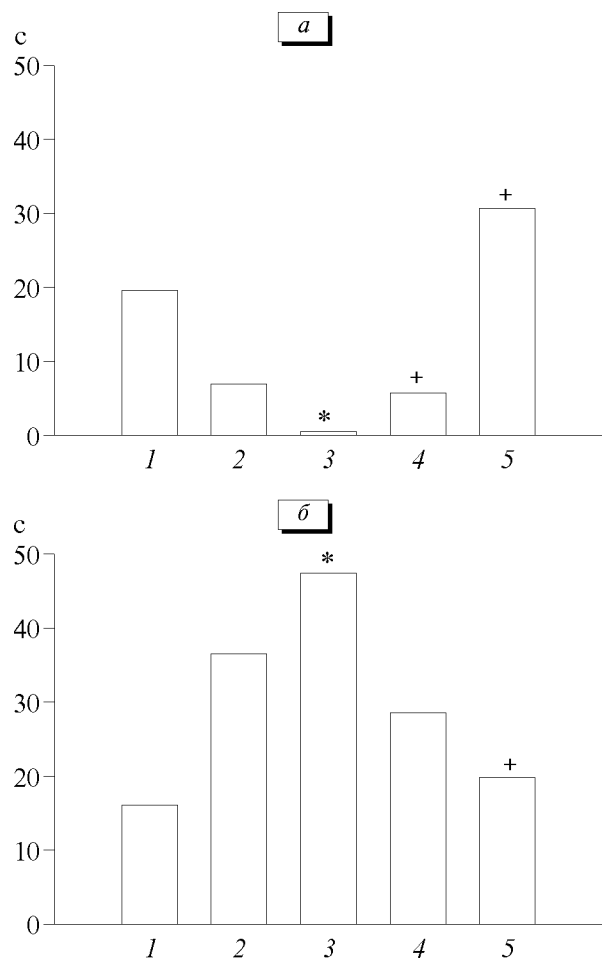


Рис. 2. Влияние нимодипина и СМД анти-S100 на поведение крыс после ГИ в тесте ПКЛ. а — время, проведенное в открытых рукавах; б — время, проведенное на центральной платформе.

кающие у крыс после ГИ. Принимая во внимание положительные результаты, полученные ранее при исследовании противоишемического действия препарата на модели ишемического инсульта [6], препарат можно рассматривать как потенциальное средство лечения как ишемического инсульта, так и ГИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганнушкина И.В. // Журн. неврол. и психиатр. 1996. № 1. С. 14-18.
2. Макаренко А.Н., Косицын Н.С., Пасикова Н.В. // Журн. высш. нервн. деят. 2002. Т. 52, № 6. С. 765-768.
3. Пирадов М.А. // Нервные болезни. 2005. № 1. С. 17-19.
4. Романова Г.А., Воронина Т.А., Дугина Ю.Л. и др. // Бюл. exper. биол. 2005. Т. 139, № 4. С. 395-399.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У.Хабриева. М., 2005.
6. Середенин С.Б., Воронина Т.А., Незнамов Г.Г., Жердев В.П. Феназепам. 25 лет в медицинской практике. М., 2007. С. 9-132.

7. *Скороходов А.П.* // Мед. кафедра. 2005. № 3. С. 144-150.
 8. *Ader R., Weijnen W., Moleman P.* // Psychon. Sci. 1972. Vol. 26. P. 125-128.
 9. *Dunham N.W., Miya T.S.* // J. Am. Pharm. Assoc. Am. Pharm. Assoc. (Baltim.). 1957. Vol. 46, N 3. P. 208-209.
 10. *Heizmann C.W., Fritz G., Schäfer B.W.* // Front Biosci. 2002. N 7. P. d1356-d1368.
 11. *Pellow S., File S.E.* // Pharmacol. Biochem. Behav. 1986. Vol. 24, N 3. P. 525-529.
 12. *Rothermundt M., Arolt V., Wiesmann M. et al.* // J. Affect. Disord. 2001. Vol. 66. N 1. P. 89-93.
-
-

**БЮЛЛЕТЕНЬ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОЛОГИИ
И МЕДИЦИНЫ**

8

ПРИЛОЖЕНИЕ

2009