

ВЛИЯНИЕ МИГРЕПИНА НА АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ КАУДАЛЬНОГО ЯДРА ТРОЙНИЧНОГО НЕРВА

А. Ю. Соколов¹, О. А. Любашина², Ю. Д. Игнатов¹, С. С. Пантелеев^{1, 2},
А. О. Сыровая³, Т. В. Звягинцева³

В электрофизиологических экспериментах на крысах изучено влияние мигрепина (12,5; 25 и 37,5 мг/кг, в вену), представляющего комбинацию 2,4-дихлорбензоата калия, карбамазепина и кофеина, на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов каудального ядра тройничного нерва. Показано, что мигрепин дозозависимо угнетает активность указанных нейронов.

Ключевые слова: мигрень, тройничный нерв, 2,4-дихлорбензоат калия, нейрональная активность, карбамазепин, кофеин

ВВЕДЕНИЕ

В последние 10 – 15 лет ассортимент используемых для купирования приступа мигрени препаратов стабилен и ограничивается триптанами, НПВС, алкалоидами спорыньи, опиоидными анальгетиками, некоторыми ГАМК-миметиками и блокаторами дофаминовых рецепторов [15]. Несмотря на доказанную в клинике эффективность эти препараты имеют ряд недостатков, что определяет поиск новых лекарственных средств и схем лечения головной боли.

Одним из способов оптимизации фармакотерапии мигренозной атаки является “уход” от принципа монотерапии и создание комбинированных препаратов, представляющих фиксированное сочетание уже известных и апробированных лекарственных средств различных фармакологических групп, способных усиливать действие друг друга [9]. В 2007 г. начались доклинические испытания нового препарата с рабочим названием мигрепин, представляющего комбинацию 2,4-дихлорбензоата калия 18,5 %, карбамазепина 74,1 % и кофеина 7,4 %. В серии скрининговых тестов показано, что мигрепин обладает анальгетической, противовоспалительной, противосудорожной и антиоксидантной активностью, на основании чего было высказано предположение о возможном его использовании для лечения головных болей [2, 5]. Однако для предварительного позиционирования препарата как антимигренозного средства необходимо его изучение на специальных преклинических моделях цефалгий, среди которых наиболее информативной является нейрофизиологическая модель “краниоваскулярной боли” [7].

В представленной работе мы использовали этот метод для изучения влияния мигрепина на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность конвергентных нейронов каудального ядра тройничного нерва.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 21 самце крыс линии Вистар массой 320 – 400 г. Наркотизацию животных осуществляли смесью уретана (ICN, США, 800 мг/кг) и альфа-хлоралозы (ICN, США, 60 мг/кг) внутривенно. После катетеризации бедренных сосудов и трахеостомии животное помещали в стереотаксический аппарат (“Медикор”, Венгрия). Далее выполняли краниотомию в теменной области и ламинэктомию первого шейного позвонка. После введения миорелаксанта пипекурония бромида (в вену, начальная доза 1,2 мг/кг, поддерживающая — 0,6 мг/кг) животное переводили на искусственную вентиляцию легких (модернизированный аппарат ВИТА-1, Россия) с частотой 65 – 75 в мин и объемом 2 – 4 мл. Температуру тела животного контролировали ректальным термометром и поддерживали на уровне 37 – 38 °С с помощью специальной подогревающей подставки и водяного термостата (U-10, Германия). Среднее артериальное давление в ходе опыта составляло 70 – 100 мм рт. ст.

Поиск нейронов осуществляли на уровне каудальной части продолговатого мозга и первого сегмента цервикального отдела спинного мозга на расстоянии от 0 до 3,5 мм каудальнее задвижки и от 1,5 до 2,5 мм латеральнее средней линии на глубине от 0,2 до 1,5 мм от поверхности мозга. Регистрацию нейрональной активности производили внеклеточно с помощью изолированных лаком вольфрамовых микроэлектродов с диаметром кончика 2 – 5 мкм и сопротивлением 8 – 12 МОм. Погружение микроэлектрода в ткань мозга осуществляли с помощью электронного манипулятора (МП-2, Россия) с шагом 4 мкм. Отбор нейронов для исследования проводили по наличию ответов на ипсилатеральное электрическое раздражение твердой мозговой оболочки в области верхнего сагиттального

¹ Институт фармакологии им. А. В. Вальдмана СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8.

² Лаборатория кортико-висцеральной физиологии (зав. — С. С. Пантелеев) Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург.

³ Кафедра фармакологии и медицинской рецептуры (зав. — проф. Т. В. Звягинцева) Харьковского национального медицинского университета.

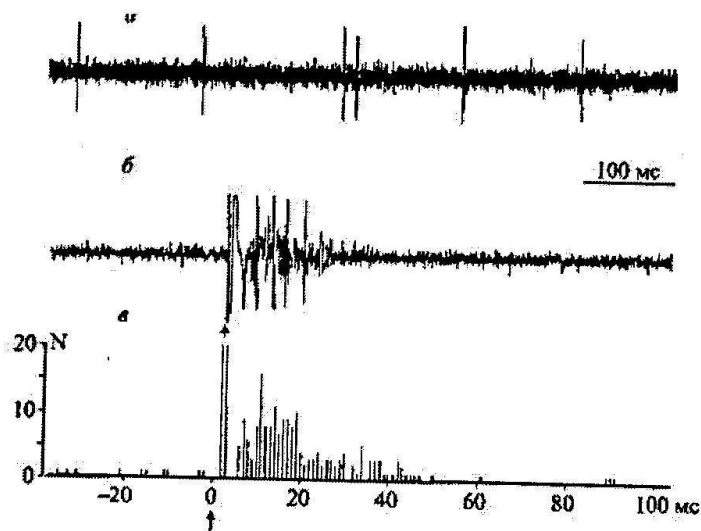


Рис. 1. Фоновая (а) и вызванная электрическим раздражением твердой мозговой оболочки (б, в) активность нейрона каудального ядра тройничного нерва.

а — Осциллограмма спонтанной нейрональной активности, горизонтальная черта — отметка времени (100 мс); б — осциллограмма ответа нейрона на одиночное электрическое раздражение твердой мозговой оболочки, момент стимуляции обозначен стрелкой; в — суммарная перистимульная частотная гистограмма ответов нейрона, накопленная по 20-ти предъявлениям электрического раздражения с частотой 0,3 Гц. По оси абсцисс — время в бинах, 1 бин = 1 мс, 0 — момент стимуляции; по оси ординат — количество спайков в бине.

синуса и реакции на тактильную стимуляцию кожи морды на стороне поиска.

Для электрического раздражения твердой мозговой оболочки использовали биполярные серебряные электроды в виде шариков диаметром 0,3 мм с межэлектродным расстоянием 2–3 мм и сопротивлением около 50 кОм. Стимуляцию проводили одиночными прямоугольными импульсами тока силой 0,5–1 мА и длительностью 500–800 мкс с помощью электростимулятора (ЭСУ-2, Россия).

Сигнал от микроэлектрода после необходимого усиления подавали на вход аналого-цифрового преобразователя (AD-32, Россия) для оцифровки и ввода в персональный компьютер. Мониторинг активности исследуемых нейронов, построение гистограмм и управление электрической стимуляцией твердой мозговой оболочки осуществляли в режиме реального времени с помощью специального программного обеспечения [3]. Вызванную нейрональную активность оценивали по перистимульным гистограммам с постстимульной эпохой анализа длительностью 50 мс. Гистограммы накапливали по двадцати последовательным реализациям одиночного электрического раздражения с частотой следования стимулов 0,3 Гц. Для оценки фоновой активности использовали способ псевдостимуляций, т.е. построение гистограмм без подачи электрического сигнала. В этом случае гистограммы длительностью 500 мс накапливали по пятидесяти последовательным “холостым” реализациям с частотой 1 Гц.

Влияние мигрелина на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки

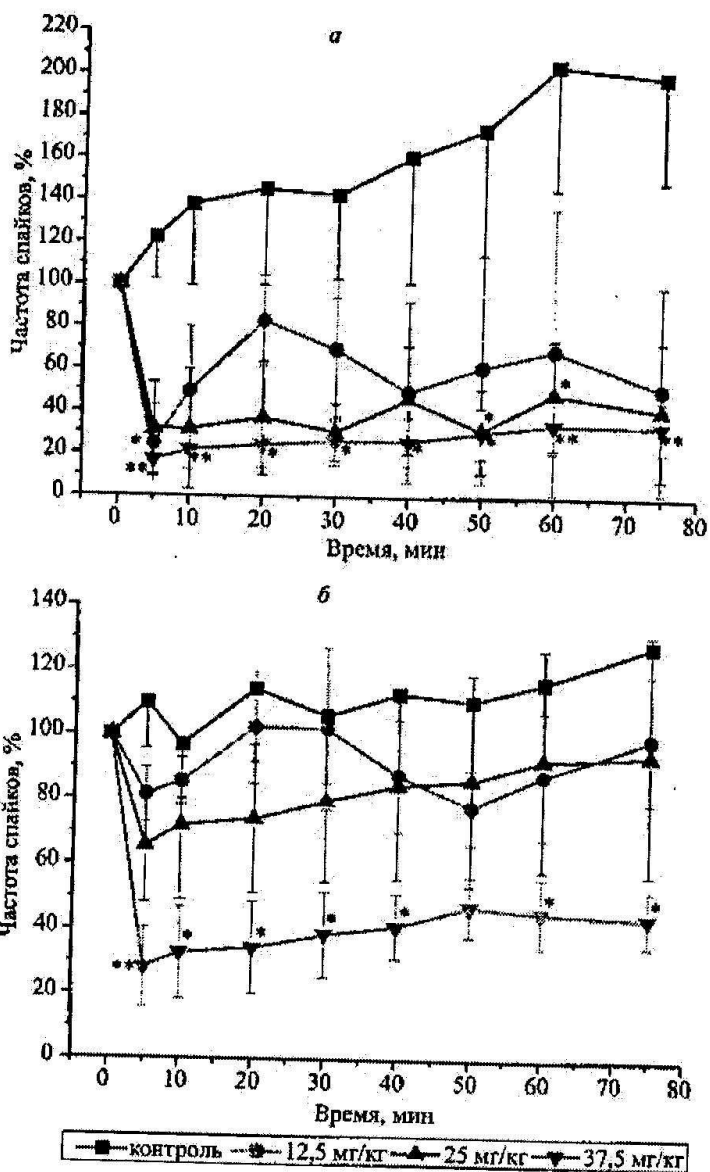


Рис. 2. Влияние мигрелина в дозах 12,5; 25 и 37,5 мг/кг на фоновую (а) и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки (б) активность нейронов каудального ядра тройничного нерва.

По оси абсцисс — время в мин, 0 мин — исходные значения; по оси ординат — средняя частота разрядов нейронов в процентах к исходному значению. Различия достоверны по сравнению с контролем (тест Манна-Уитни для непарных измерений): * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

активность нейронов каудального ядра тройничного нерва оценивали в дозах 12,5 ($n = 4$), 25 ($n = 5$) и 37,5 ($n = 7$) мг/кг до и через 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 и 75 мин после введения препарата. Изучаемое вещество *ex tempore* разводили на водяной бане в 0,75 мл растворителя и вводили внутривенно медленно в течение 1 мин. Растворитель включал следующие компоненты: диметилсульфоксид — 5 %, этанол — 10 %, полиэтиленгликоль-400 — 20 %, физраствор — 65 %. В контрольной группе ($n = 5$) вводили эквивалентный объем подогретого растворителя. По окончании эксперимента животных выводили из опыта внутривенным введением уретана в дозе не менее 3 г/кг.

Для окончательной обработки данных и графического оформления результатов применяли программный пакет Origin 7.5. Статистическую оценку полученных результатов проводили с помощью программы

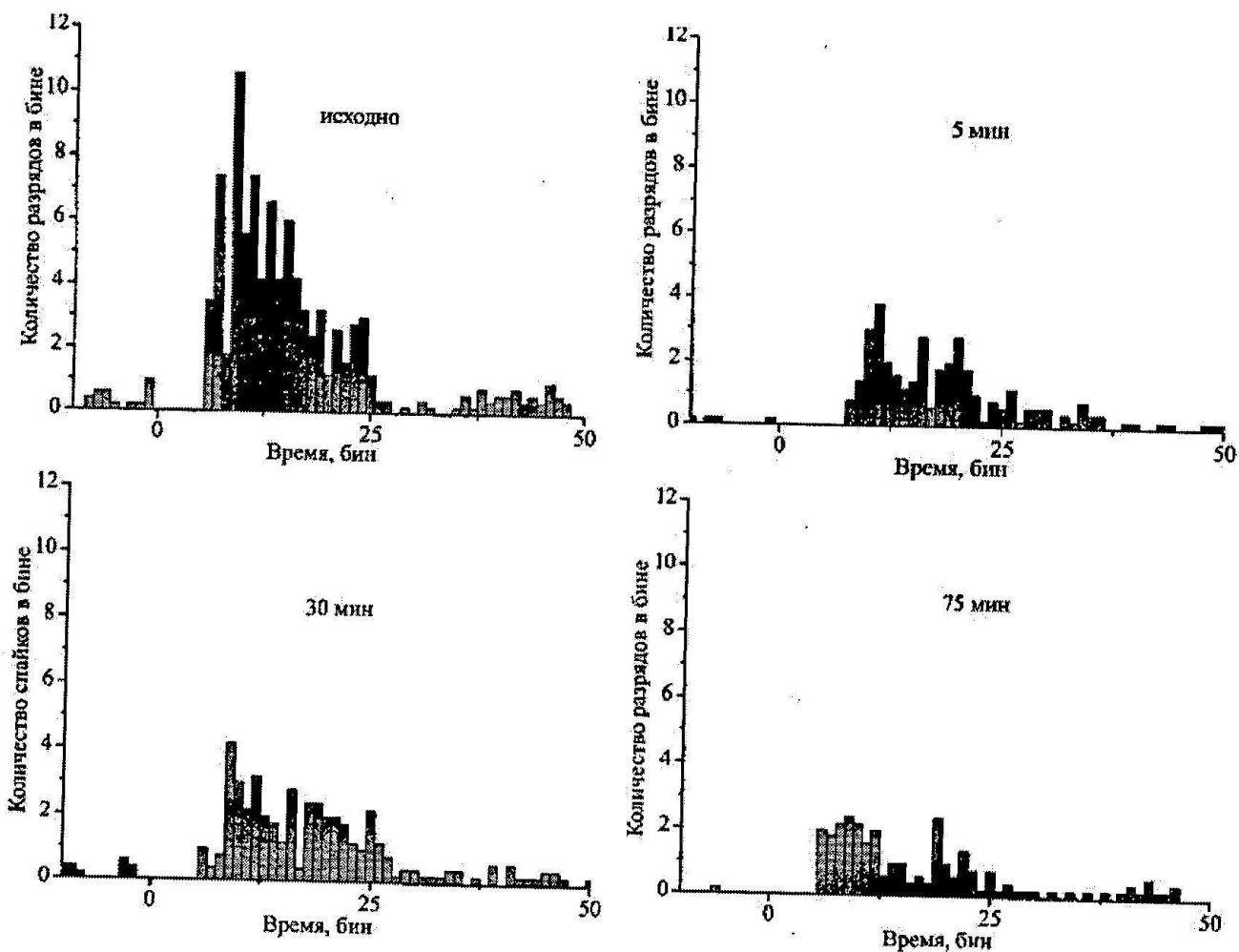


Рис. 3. Суммарные перистимульные гистограммы ответов нейронов каудального ядра тройничного нерва на одиночное электрическое раздражение твердой мозговой оболочки до введения и через 5, 30 и 75 мин после введения мигрепина в дозе 37,5 мг/кг. По оси абсцисс — время в бинах, 1 бин = 1 мс, 0 — момент стимуляции; по оси ординат — среднее число разрядов в бине. Количество реализаций — 20, частота 0,3 Гц.

InStat 3.02 с использованием непараметрических методов для парных (тесты Фридмана и Вилкоксона) и непарных (тесты Крускал-Уоллиса и Манна-Уитни) измерений. Данные представлены как среднее значение \pm SEM.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Была зарегистрирована активность 21 нейрона каудального ядра тройничного нерва. Все клетки имели стабильную фоновую активность с частотой разрядов в среднем $9,2 \pm 1,6$ имп/с. Исследованные нейроны отвечали увеличением частоты спайков в 3–8 раз на ипсилатеральную механическую стимуляцию морды в области глазницы, переносицы, верхней губы, лба и виска, однако не реагировали на контралатеральное раздражение указанных областей. Одиночное электрическое раздражение твердой мозговой оболочки вызвало реакцию нейронов в виде пачечного разряда, состоящего из 2–5 спайков (рис. 1). Латентный период ответа был не более 12 мс, а общая его продолжительность не превышала 40 мс.

Введение растворителя в группе контроля не сопровождалось достоверными по сравнению с исходными

значениями изменениями фоновой активности нейронов и их ответов на электрическое раздражение твердой мозговой оболочки, хотя и наблюдалась тенденция к их постепенному увеличению (рис. 2).

Мигрепин в дозах 12,5; 25 и 37 мг/кг оказывал в целом прямое дозозависимое угнетающее влияние на фоновую и вызванную раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов каудального ядра, причем увеличение дозы препарата сопровождалось не только нарастанием, но и стабилизацией его тормозного действия (рис. 2). Однако анализ тайм-курса изменений нейрональной активности под влиянием мигрепина в дозах 12,5 и 25 мг/кг не выявил достоверных по отношению к исходному уровню различий, а значимые по сравнению с контролем изменения определялись лишь в единичных точках и только для фоновой активности.

В дозе 37,5 мг/кг мигрепин вызывал выраженное уменьшение частоты спонтанной генерации спайков и резкое торможение нейрональных ответов (рис. 2, 3). Уже через 5 мин после инфузии препарата средняя частота фоновых разрядов составляла $16,7 \pm 7,9$ % от исходного уровня, а вызванных — $28,1 \pm 12,4$ %

($p < 0,001$). При этом достоверные по отношению к контролю изменения фоновой активности были выявлены в каждой из восьми временных точек регистрации ($p < 0,01$ для 5, 10, 60 и 75 мин и $p < 0,05$ для интервала 20 – 50 мин). Угнетение ответов также было значимым по сравнению с контролем в интервалах от 5 до 40 мин и от 60 до 75 мин ($p < 0,05$).

Выбранная нами для исследования модель “кранио-васкулярной боли” основана на современных представлениях о структурно-функциональной организации тригемино-васкулярной системы и является хорошо известным методом скрининга различных субстанций на предмет выявления у них антицефалгических свойств [4, 7, 10]. Ранее было показано, что клинически эффективные антимигренозные препараты различных фармакологических групп, например, триптаны, НПВС, ГАМК-миметики и CGRP-антагонисты при разных способах введения достоверно угнетают спайковую активность нейронов каудального ядра, что является одним из ключевых аспектов их фармакодинамики [4, 8, 14]. Аналогичные результаты были получены и при изучении некоторых субстанций, которые могут быть применены для борьбы с мигренью в будущем [6, 10, 11]. Поэтому справедливо предположить, что если некое вещество оказывает угнетающее влияние на нейрональную активность в тройничном комплексе, то оно обладает потенциальными антицефалгическими свойствами.

В нашем исследовании выявлено, что мигрепин обладает прямым дозозависимым угнетающим влиянием на активность нейронов каудального ядра тройничного нерва. При этом он подавлял не только вызванные ответы, но и фоновую активность указанных нейронов, величина которой также может зависеть от интенсивности периферических входов, в том числе и от мозговых оболочек [12]. К сожалению, не представляется возможным установить точное место действия данного препарата в ядре (пре- или постсинаптическая мембрана нейронов) при внутривенном способе его введения. Впрочем, как фоновая, так и вызванная активность в сумме дают интегративную характеристику нейрональной возбудимости, общая оценка измене-

ния которой под влиянием мигрепина, собственно, и являлась первостепенной задачей нашего исследования.

ВЫВОД

Комбинированный препарат мигрепин при внутривенном введении оказывает дозозависимое угнетающее влияние на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов каудального ядра тройничного нерва, что может сопровождаться торможением проведения болевой информации от мозговых оболочек в надсегментарные структуры ЦНС.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Амелин, С. В. Тарасова, А. Ю. Соколов и др., *Журн. неврол. и психиат.*, 107(1), 16 – 20 (2007).
2. Т. В. Звягинцева, Л. Т. Киричек, А. О. Сырочая и др., *Психофармакол. и биол. нарком.*, Спец. выпуск, 7(1), 1703 (2007).
3. С. С. Пантелеев, *Тез. докл. междунар. конф. “Механизмы функционирования висцеральных систем”*, СПб (2001), сс. 270 – 271.
4. А. Ю. Соколов, А. В. Амелин, Ю. Д. Игнатов, С. С. Пантелеев, *Экспер. и клин. фармакол.*, 71(5), 3 – 7 (2008).
5. А. О. Сырочая, *Укр. биофармацевтич. журн.*, 1(2), 15 – 18 (2009).
6. S. Akerman, P. R. Holland, P. I. Goadsby, *JPET*, 320(1), 64 – 71 (2007).
7. A. P. Andreou, O. Suram, A. R. Charbit, et al., *Expert Rev. Neurother.*, 10(3), 389 – 411 (2010).
8. M. Jakubowski, D. Levy, V. Kainz, et al., *Neuroscience*, 148(2), 573 – 583 (2007).
9. A. V. Krymchantowski, *Neuropsych. Disease and Treatment*, 2(3), 293 – 297 (2006).
10. G. A. Lambert, J. B. Davis, J. M. Appleby, et al., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, 380(4), 311 – 325 (2009).
11. S. Mehrotra, S. Gupta, K. Y. Chan, et al., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, 378(4), 371 – 94 (2008).
12. M. Roch, K. Messlinger, V. Kulchitsky, et al., *Neuroscience*, 150, 681 – 91 (2007).
13. R. E. Shapiro, *Curr Pain Headache Rep.*, 12(4), 311 – 315 (2008).
14. R. J. Storer, S. Akerman, P. I. Goadsby, *Br. J. Pharmacol.*, 142, 1171 – 1181 (2004).
15. F. R. Taylor, *Semin. Neurol.*, 30(2), 145 – 53 (2010).

Поступила 14.09.10

EFFECT OF MIGREPIN ON ACTIVITY OF TRIGEMINAL NUCLEUS CAUDALIS NEURONS

A. Yu. Sokolov¹, O. A. Lyubashina², Yu. D. Ignatov¹, S. S. Panteleev^{1,2}, A. O. Syrovaya³, and T. V. Zvyagintseva³

¹ Valdman Institute of Pharmacology, Pavlov Medical University, St. Petersburg, 197022, Russia;

² Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, nab. Makarova 6, St. Petersburg, 199034, Russia;

³ Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

Neurophysiological experiments on anesthetized rats were used to study the effects of various doses (12.5, 25, 37.5 mg/kg, i.v.) of drug composition migrepin (representing a combination of potassium-2,4-dichlorobenzoate, carbamazepine, and caffeine) on background firing of the trigeminal nucleus caudalis neurons and their responses to electrical stimulation of the dura mater. It was found that migrepin produces direct, dose-dependent inhibitory action on functional activity of TNC neurons. The results confirmed anti-migraine properties of the drug but did not exclude the necessity to study its action in clinical trials.

Key words: Migraine, trigeminal nucleus caudalis neurons, potassium 2,4-dichlorobenzoate, neuronal activity, carbamazepine, caffeine