

КОРПОРАТИВНА ІНФОРМАЦІЯ

© Сырoвая А.О.

УДК: 615.21:616.857-092.9

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИГРЕНОЗНОЙ АКТИВНОСТИ «МИГРЕПИНА» В ЭКСПЕРИМЕНТЕ*

Сырoвая А.О.

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков

В експериментах на щурах вивчено вплив «Мігрепіну» (37,5 мг/кг, внутрішньовенно) на динаміку фонової та викликаної електричним подразненням твердої мозкової оболонки активності нейронів каудального ядра трійчастого нерва. «Мігрепін» пригнічує активність вказаних нейронів. «Мігрепін» у дозі 37 мг / кг при внутрішньовенному введенні надавав в цілому прямий пригнічуючий вплив на фонову і викликану подразненням твердої мозкової оболонки активність нейронів каудального ядра. «Мігрепін» викликав виражене пригнічення частоти спонтанної генерації спайков і різке гальмування нейрональних відповідей. Вже через 5 хв після інфузії препарату значення фонової активності становило $16,7 \pm 7,9\%$ від початкового рівня, а викликаної - $28,1 \pm 12,4\%$ ($p < 0,001$). Зміни достовірно ($p < 0,01$ для 5, 10, 60 і 75 хв і $p < 0,05$ для інтервалу 20-50 хв) відрізнялися від контролю в кожній з восьми тимчасових точок реєстрації фонової активності. Пригнічення відповідей також було значущим в порівнянні з контролем ($p < 0,05$) в інтервалах від 5 до 40 хв і від 60 до 75 хв. Відомо, якщо речовина пригнічує вплив на нейрональну активність в трійчастому комплексі, то вона має потенційні антицефалгічні властивості. «Мігрепін» має прямий пригнічувальний впливом на активність нейронів каудального ядра, що може бути реалізовано як на пре-, так і на постсинаптичному рівнях. На користь першого свідчить гальмування відповідей нейронів на стимуляцію твердої мозкової оболонки, а на користь другого - пригнічення фонової нейрональної активності. Одержані дані дозволяють припустити наявність у «Мігрепіна» антимігренозних властивостей.

Ключові слова: мігрень, трійчастий нерв, нейрональна активність.

Одним из способов оптимизации фармакотерапии мигренозного приступа является создание комбинированных препаратов, представляющих собой фиксированное сочетание уже известных и апробированных лекарственных средств различных фармакологических групп, способных потенцировать действие друг друга [1, 2, 7, 16, 17]. В серии скрининговых тестов было показано, что «Мигрепин» обладает дозозависимой, обезболивающей, противовоспалительной, противосудорожной, антимигренозной и антиоксидантной активностью [3-5; 10-15]. Эти эффекты являются полезными с точки зрения терапии головных болей, в том числе мигренозных. Наиболее информативной моделью для изучения антимигренозной активности является нейрофизиологическая модель «краниоваскулярной боли» [3-5]. Поэтому целью нашей работы явилось изучение влияния «Мигрепина» на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность конвергентных нейронов каудального ядра тройничного нерва.

Материалы и методы исследований

Источник получения и место нахождения лабораторных животных - виварий (температура воздуха – 23-25 °С, освещение – в помещении 100 люкс, в клетке – 20-40 люкс). Продолжительность пребывания лабораторных животных – 1,5 месяца, период акклиматизации – 2 недели; основной рацион – овощи, кормовую свеклу; источник воды - отстоянная водопроводная вода. Крыс содержали в условиях вивария согласно правилам гуманного отношения к лабораторных животных. Исследование проводили с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986) и постановления Третьего национального конгресса по биоэтике (Киев, 2007) [6, 18]. Опыты проводились в первой половине дня, что по данным литературы согласуется с зависимостью основных фармакологических параметров и фармакологической активностью принятого к исследованию препарата от циркадных

* Цитування при атестації кадрів: Сырoвая А.О. Изучение антимигренозной активности «Мигрепина» в эксперименте // Проблеми екології і медицини. – 2013. – Т. 17, № 1-2. – С. 77–80.

ритмов. Перерасчет с доз человека на крыс осуществлено с использованием коэффициента видовой чувствительности по Рыболовлеву Ю.Р. [9].

Работа выполнена в соответствии с Договором о научно-практическом сотрудничестве с Институтом фармакологии им. А.В. Вальдмана Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (директор Института академик РАМН, д.м.н., профессор Ю.Д. Игнатов) и с лабораторией кортико-висцеральной физиологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (зав.лабораторией д.б.н. С.С. Пантелеев). Работа выполнена в острых опытах на крысах линии WAG популяции Вистар массой 320-400 г. Наркотизация животных осуществлялась введением смеси уретана («ICN», США, 800 мг/кг, в/б) и альфа-хлоралозы («ICN», США, 60 мг/кг, в/б). После катетеризации бедренных сосудов и трахеостомии животное помещалось в стереотаксический аппарат («Медикор», Венгрия). Далее выполнялись краниотомия в теменной области и ламинэктомия первого шейного позвонка. После введения миорелаксанта пипекурония бромид (в/в, 1,2 мг/кг начальная доза и 0,6 мг/кг поддерживающая) животное переводилось на искусственную вентиляцию легких (модернизированный аппарат «ВИТА-1», Россия) с частотой 62,5 - 75 в мин и объемом 2-4 мл. Температура тела животного контролировалась ректальным термометром и поддерживалась 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.

Для электрического раздражения твердой мозговой оболочки использовались накладные биполярные серебряные электроды. Стимуляция проводилась одиночными прямоугольными импульсами тока силой 0,5-1,0 мА и длительностью 500-800 мкс с помощью электро-стимулятора (ЭСУ-2, Россия).

Отводимая микроэлектродом нейрональная активность после необходимого усиления подавалась 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 осуще-

ствлялись в режиме реального времени с помощью специального программного обеспечения [8, 19]. Оценка вызванной нейрональной активности производилась по перистимульным гистограммам с постстимульной эпохой анализа длительностью 50 мс.

Влияние «Мигрепина» на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов каудального ядра тройничного нерва оценивалось в дозе 37,5 (n=7) мг/кг до и через 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 и 75 минут после инфузии препарата. Изучаемое вещество *ex tempore* разводили на водяной бане в 0,75 мл растворителя и вводили внутривенно медленно в течение 1 мин. Рецепт растворителя был получен эмпирическим путем. В контрольной группе (n=5) вводили эквивалентный объем подогретого растворителя при прочих равных условиях эксперимента. После окончания эксперимента осуществляли эвтаназию животных внутривенным введением уретана в дозе не менее 3 г/кг.

Для окончательной обработки данных и графического оформления результатов экспериментов применялся программный пакет «Origin 7.5». Определение значимости полученных результатов производили с помощью программы «InStat 3.02» с использованием непараметрических методов для парных (тесты Фридмана и Вилкоксона) и непарных (тесты Крускал-Уоллиса и Манна-Уитни) измерений.

Результаты и их обсуждение

Введение растворителя в группе контроля не сопровождалось достоверными по сравнению с исходными значениями изменениями фоновой активности и вызванных электрическим раздражением твердой мозговой оболочки ответов нейронов, хотя и наблюдалась тенденция к их постепенному увеличению. «Мигрепин» в дозе 37 мг/кг при внутривенном введении оказывал в целом прямое угнетающее влияние на фоновую и вызванную раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов каудального ядра. «Мигрепин» вызывал выраженное подавление частоты спонтанной генерации спайков и резкое торможение нейрональных ответов.

Таблица 1
Влияние «Мигрепина» на фоновую активность нейронов тригемино-цервикального комплекса

Время, мин.	Средняя частота фоновой активности, %		Достоверность изменений в сравнении с контролем ²
	«Мигрепин»	Контроль	
<i>До введения препарата или растворителя (исходное значение)</i>			
0	100	100	
<i>После введения препарата или растворителя</i>			
5	16,7±7,9***	122,3±19,6	P=0,003##
10	21,6±9,5***	138,1±38,4	P=0,003##
20	24,2±10,6**	145,6±45,4	P=0,02#
30	26,1±11,3**	143,1±49,0	P=0,03#
40	26,0±11,4*	161,0±59,7	P=0,03#
50	30,6±11,9*	174,6±60,0	P=0,02#
60	34,5±12,7*	204,6±58,5	P=0,005##
75	33,9±12,3*	199,5±49,4	P=0,005##
Достоверность изменений в сравнении с 0 мин ¹	P < 0.0001	P = 0.19	

Примечания: 1. Непараметрический критерий Фридмана для повторных измерений с пост-тестом Данна; *, ** и *** – изменения достоверные при P < 0,05, P < 0,01 и P < 0,001, соответственно, в сравнении с исходными показателями до введения препарата (непараметрический критерий Вилкоксона для парных измерений и пост-тест Данна); 2. Непараметрический критерий Манна-Уитни для непарных измерений; # i ## – изменения достоверные при P < 0,05 и P < 0,01, соответственно, в сравнении с контролем в каждой временной точке.

Уже через 5 мин после инфузии препарата значение фоновой активности составляло $16,7 \pm 7,9\%$ от исходного уровня, а вызванной - $28,1 \pm 12,4\%$ ($p < 0,001$). Изменения достоверно ($p < 0,01$ для 5, 10, 60 и 75 мин и $p < 0,05$ для интервала 20-50 мин) отличались от контроля в каждой

из восьми временных точек регистрации фоновой активности. Угнетение ответов также было значимым по сравнению с контролем ($p < 0,05$) в интервалах от 5 до 40 мин и от 60 до 75 мин. (табл. 1, 2).

Таблица 2
Влияние «Мигрепина» на вызванное электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов тригемино-цервикального комплекса

Время, мин.	Средняя частота вызванной активности, %		Достоверность изменений в сравнении с контролем ²
	«Мигрепин»	Контроль	
<i>До введения препарата или растворителя (исходное значение)</i>			
0	100	100	
<i>После введения препарата или растворителя</i>			
5	$28,1 \pm 12,4^{***}$	$109,8 \pm 14,1$	$p = 0,005\#\#$
10	$32,6 \pm 14,2^{***}$	$96,8 \pm 16,6$	$p = 0,02\#$
20	$34,4 \pm 14,2^*$	$114,2 \pm 22,5$	$p = 0,02\#$
30	$38,5 \pm 13,2^*$	$105,8 \pm 20,6$	$p = 0,03\#$
40	$41,2 \pm 10,0^*$	$113,0 \pm 24,9$	$p = 0,03\#$
50	$47,3 \pm 9,2^*$	$110,6 \pm 31,2$	$p = 0,07$
60	$45,5 \pm 10,6^*$	$116,4 \pm 28,5$	$p = 0,01\#$
75	$44,0 \pm 8,5^*$	$128,0 \pm 29,5$	$p = 0,01\#$
Достоверность изменений в сравнении с 0 мин	$P = 0,0014$	$P = 0,75$	

Примечания: 1. Непараметрический критерий Фридмана для повторных измерений с пост-тестом Данна; * и *** — изменения достоверные при $P < 0,05$ и $P < 0,001$, соответственно, в сравнении с исходными показателями до введения препарата (непараметрический критерий Вилкоксона для парных измерений и пост-тест Данна); 2. Непараметрический критерий Манна-Уитни для непарных измерений; # и ## — изменения достоверные при $P < 0,05$ и $P < 0,01$, соответственно, в сравнении с контролем в каждой временной точке.

Известно, что если некое вещество оказывает угнетающее влияние на нейрональную активность в тройничном комплексе, то оно обладает потенциальными антицефалгическими свойствами [2-5]. «Мигрепин» обладает прямым угнетающим влиянием на активность нейронов каудального ядра, что может быть равновероятно реализовано как на пре-, так и на постсинаптическом уровнях. В пользу первого свидетельствует торможение ответов нейронов на стимуляцию твердой мозговой оболочки, а в пользу второго — подавление фоновой нейрональной активности.

Выводы

1. Новый отечественный комбинированный лекарственный препарат «Мигрепин» при внутривенном введении оказывает угнетающее влияние на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов каудального ядра тройничного нерва, что способствует торможению проведения болевой информации от мозговых оболочек в надсегментарные структуры ЦНС;

2. Полученные данные позволяют расценивать «Мигрепин» как антимигренозное средство.

Литература

1. Амелин А. В. Мигрень (патогенез, клиника и лечение) / А. В. Амелин, Ю. Д. Игнатов, А. А. Скоромец. — СПб., 2001. — С. 23–29.
2. Вальдман А. В. Центральные механизмы боли / А. В. Вальдман, Ю. Д. Игнатов. — Л.: Наука, 1976. — С. 189–191.
3. Влияние Мигрепина на активность нейронов каудального ядра тройничного нерва / А.Ю. Соколов, О.А. Любашина, Ю.Д. Игнатов, С.С. Пантелеев, А.О. Сырочая, Т.В. Звягинцева // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2011. — Т. 74, №5. — С. 13-16.
4. Влияние мигрепина на функциональную активность нейронов тригемино-цервикального комплекса. / А. Ю.

- Соколов, О. А. Любашина, С. С. Пантелеев, Ю. Д. Игнатов, А. О. Сырочая, Т. В. Звягинцева // Экспериментальная и клиническая фармакология. Прил.: Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средством. — 5-я Международная конференция «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам: материалы конференции — Москва, 1-4 июня, 2010. — М., 2010. — С. 81.
5. Влияние «Мигрепина» на электрическую активность нейронов ядра тройничного нерва крысы./А.Ю. Соколов, О.А. Любашина, А.О. Сырочая//Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды: материалы Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 85-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН; — Санкт-Петербург — Колтуши, 7-9 декабря 2010. — СПб, 2010. — С. 268-269.
6. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. — 2003. — № 2(22). — С. 108–109.
7. Мигрень / А. М. Вейн, О. А. Колосова, Н. А. Яковлев, Т. А. Слюсарь. — М., 1995. — С. 1–180.
8. Пантелеев С. С. Программное обеспечение для исследования висцеральных рефлексив, вызванных активацией вегетативных и соматических нервов / С. С. Пантелеев // Механизмы функционирования висцеральных систем : тез. докл. междунар. конф., посвящ. 75-летию со дня рожд. А. М. Уголева. — СПб, 2001. — С. 270–271.
9. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. — Доклады АН СССР. — 1979. — №6. — С. 1513 – 1516.
10. Сирова Г. О. Вивчення дозозалежних жарознижуючих властивостей нового лікарського засобу / Г. О. Сирова // Український біофармацевтичний журнал. — 2009. — Т. 1, № 3. — С. 8-11.
11. Сирова Г. О. Вивчення в експерименті протибольової та протисудомної дії нової комбінації, що містить карбамазепін / Г. О. Сирова // Медична хімія. — 2009. — Т. 11, № 2. — С. 119-122.
12. Сирова Г. О. Експериментальне вивчення антиоксидантної дозозалежної ефективності нового комбінованого

- препарату з групи нестероїдних протизапальних лікарських засобів / Г. О. Сирова // Український біофармацевтичний журнал. – 2009. – Т. 1, № 2. – С. 30-33.
13. Сирова Г. О. Експериментальне вивчення протибольових властивостей нового препарату «Мігрепін» / Г. О. Сирова // Клінічна фармація. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 58-61.
 14. Сирова Г. О. Експериментальне вивчення протизапальної дії препарату «Мігрепін» / Г. О. Сирова // Український біофармацевтичний журнал. – 2009. – № 4(4). – С. 35-38.
 15. Сирова Г. О. Експериментальне обґрунтування дозозалежної антиексудативної дії нового нестероїдного протизапального лікарського засобу / Г. О. Сирова // Клінічна фармація. – 2010. – Т. 14, № 1. – С. 52-54.
 16. Турчаны П. Фармакотерапия мигрени / П. Турчаны, М. Турчаны // Словакофарма ревю. – 1995. – № 4. – С. 105-111.
 17. Фармакологическое лечение мигрени // Український медичний часопис. – 2004. – №1(39). – С. 13.
 18. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of European. – Strasbourg, 1986. – №123. – 51 p.
 19. Goadsby P. J. Animal models of migraine: which model, why and for what? / P. J. Goadsby // L. Edvinsson Migraine and headache pathophysiology. – London : Martin Dunitz, 1999. – P. 155-69.

English version: THE EXPERIMENTAL EXAMINATION OF ANTY-MIGRAINE ACTIVITY OF «MIGREPIN»*

Sirovaya A.O.

Kharkov National Medical University Department of Medical and Bioorganic Chemistry

In experiments on anaesthetized rats the effects of doses (37,5 mg/kg, intravenous) of "Migrepin" on background firing of the trigeminal nucleus caudalis neurons and their responses to electrical stimulation of the dura mater were examined. "Migrepin" in dose of 37 mg/kg being injected intravenously depressed background activity of nucleus caudalis neurons and their activity induced by electrical stimulation of the dura mater. "Migrepin" markedly suppressed the frequency of spontaneous generation of spikes and sharply inhibited neuronal responses. In 5 minutes after the infusion of preparation the value of background activity was $16,7 \pm 7,9\%$ of the initial level, and that of induced one was $28,1 \pm 12,4\%$ ($p < 0,001$). Changes significantly ($p < 0,01$ for 5, 10, 60 and 75 min and $p < 0,05$ for the range of 20-50 min) differed from control in each of the eight time points of registration of background activity. Inhibition of responses was also significant compared to control ($p < 0,05$) in the range from 5 to 40 min and from 60 to 75 minutes. It is known that if a substance depresses neuronal activity in the trigeminal complex, then it has potential anti cephalgia properties. "Migrepin" has a direct inhibitory effect on the activity of nucleus caudalis neurons, which can be implemented uniformly at both pre- and postsynaptic levels. The first is confirmed by the inhibition of neuronal responses to stimulation of the dura mater, and the second – by the suppression of the background neuronal activity. It was shown, that "Migrepin" possesses direct inhibitory action on functional activity of trigeminal nucleus caudalis neurons. The findings suggest anti-migraine properties of the drug.

Key words: migraine, Migrepin, trigeminal neurons.

One way to optimize the pharmacotherapy of migraine attack is to create combined medicines which represent fixed combination of known and approved drugs of different pharmacological groups that can potentiate the effect of each other [1, 2, 7, 16, 17]. A series of screening tests have shown that the "Migrepin" has dose-dependent, analgesic, anti-inflammatory, antispasmodic, antimigraine and antioxidant activities [3-5, 10-15]. These effects are useful in treatment of headaches, including migraine. The most informative model for examination of the antimigraine activity is neurophysiological model of the "craniovascular pain" [3-5]. Therefore, the aim of our work was to examine the influence of the "Migrepin" on background activity of convergent trigeminal nucleus caudalis neurons and their responses to electrical stimulation of the dura mater.

Materials and methods

Source of obtaining and location of laboratory animals was vivarium (air temperature - 23-25 °C, lighting - indoors 100 lux, in the cage - 20-40 lux). The term of stay of laboratory animals - 1.5 months, acclimatization period - 2 weeks, the basic diet - vegetables, mangel, the source of water - settled tap water. Rats were caged in vivarium according to the rules of humane treatment of

laboratory animals. The examination was carried out in compliance with the principles of the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and scientific purposes" (Strasbourg, 1986) and resolution of the Third National Congress on Bioethics (Kiev, 2007) [6, 18]. The experiments were carried out in the first half of the day, which according to data corresponds to the dependence between the main pharmacological parameters and pharmacological activity of the drug taken to the examination and circadian rhythms. Recalculation of human doses for rats was performed with use of coefficient of species sensitivity according to Rybolovlev Y.R. [9].

Work is done in accordance with the Agreement on scientific and practical cooperation with the Valdman Institute of Pharmacology Pavlov Medical University (St. Petersburg), (head - RAMS academician, MD, professor Y.D. Ignatov) and with Corticovisceral Laboratory of Pavlov Institute of Physiology RAS (head of Laboratory – MD, S.S. Panteleyev). The examination was done in acute experiments on WAG rats of the Wistar strain weighing 320-400 g. Animals were narcotized by introduction of mixture of urethane («ICN», USA, 800 mg/kg, intraperitoneal) and alpha-chloralose («ICN» USA, 60 mg/kg, intraperitoneal). After catheterization of

* To cite this English version: Sirovaya A.O. The experimental examination of anty-migraine activity OF «Migrepin» // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2013. - Vol 17, № 1-2. - P. 80-82.