

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 преคลินิกеских 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. Валдымана 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.

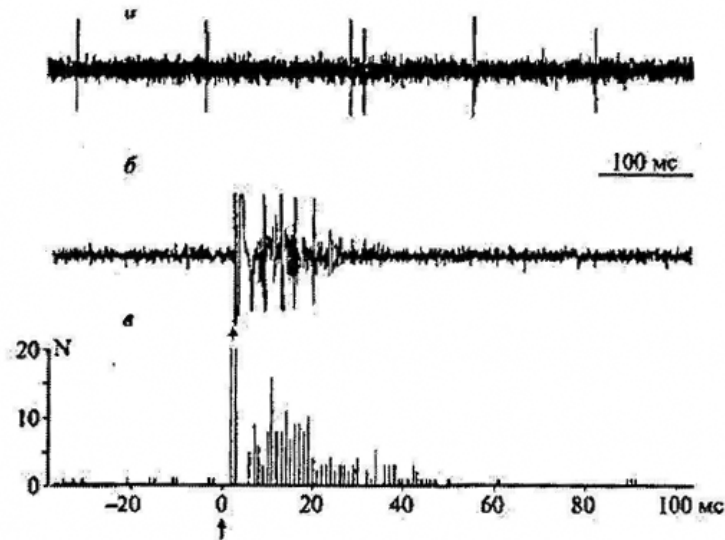


Рис. 1. Фоновая (а) и вызванная электрическим раздражением твердой мозговой оболочки (б, в) активность нейрона каудального ядра тройничного нерва.

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 мигрепина на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки

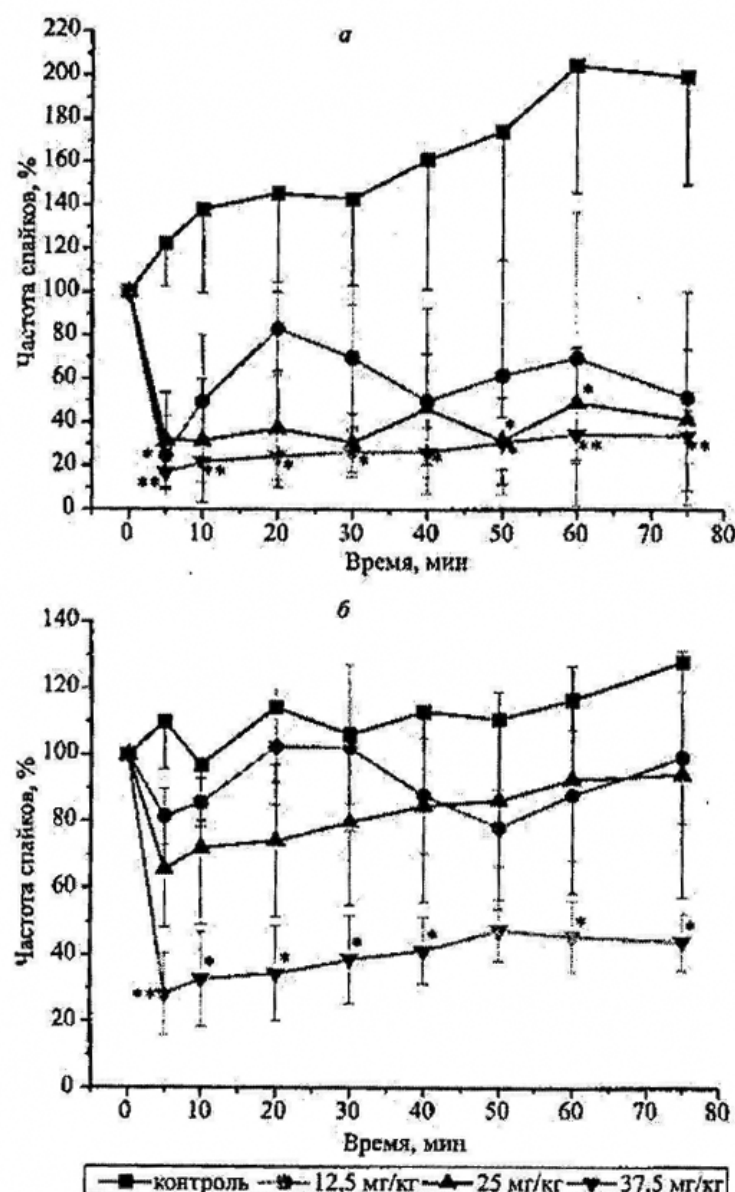


Рис. 2. Влияние мигрепина в дозах 12,5; 25 и 37,5 мг/кг на фоновую (а) и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки (б) активность нейронов каудального ядра тройничного нерва.

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

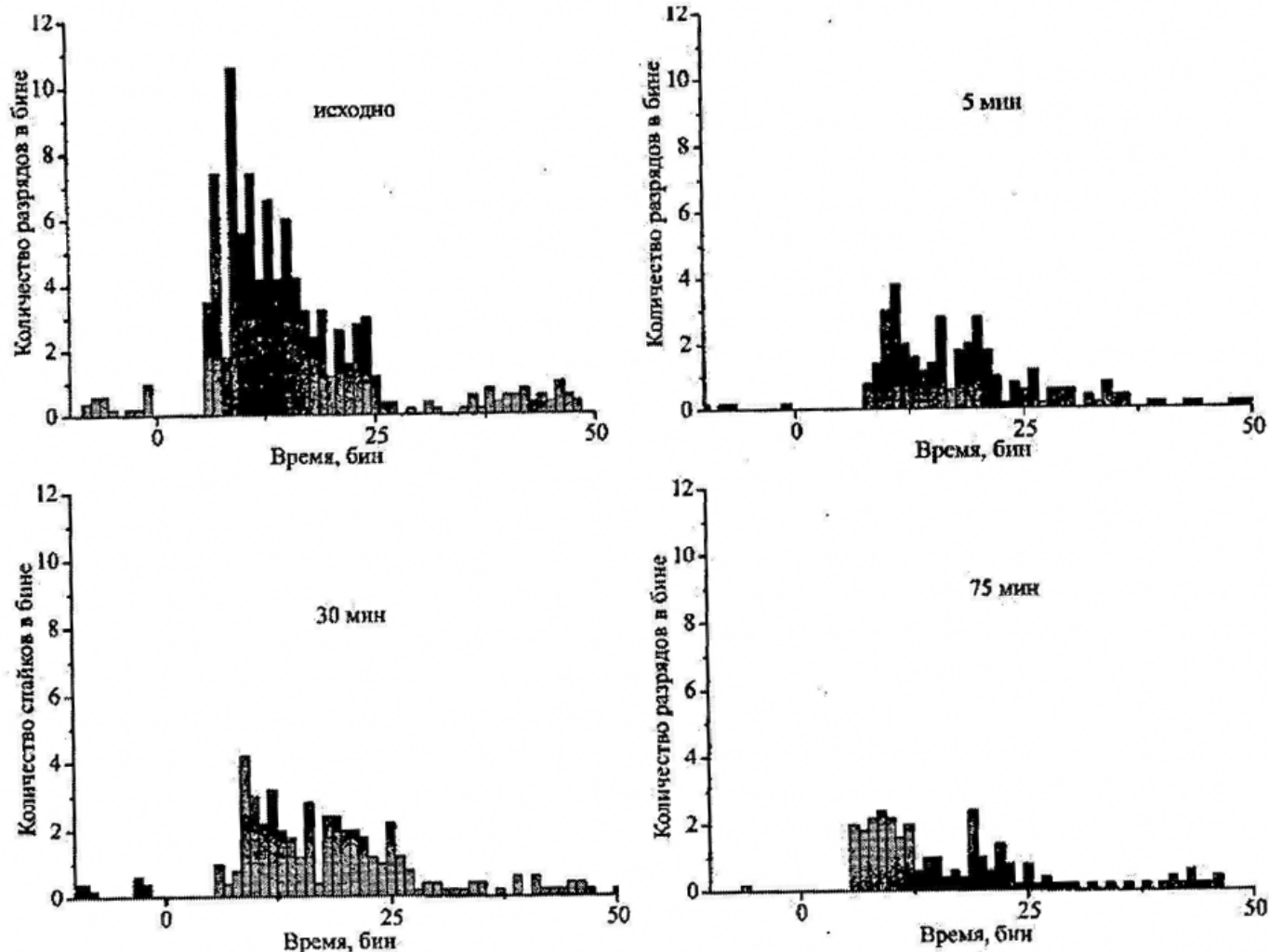


Рис. 3. Суммарные перистимульные гистограммы ответов нейронов каудального ядра тройничного нерва на одиночное электрическое раздражение твердой мозговой оболочки до введения и через 5, 30 и 75 мин после введения мигрепина в дозе 37,5 мг/кг.

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-курв 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, резкое торможение нейрональных ответов (рис. 2). 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. Сыроча 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. Сыроча, *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. Summ, 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. Krymchankowski, *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 Valdiman 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