

УДК 616-001:616.831-36

DOI: 10.22141/2224-0586.16.4.2020.207941

Семененко С.І., Семененко А.І., Поліщук С.С., Вознюк Л.А., Семененко І.Ф.  
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, Україна

## Вплив адемолу на рівень фактора некрозу пухлини $\alpha$ у головному мозку щурів з модельним травматичним ураженням мозку

**Резюме.** *Актуальність.* Виявлення біомаркерів запалення в умовах черепно-мозкової травми (ЧМТ) може стати цінним доповненням до поліпшення якості прогнозування фіналів травми головного мозку. Одним із таких маркерів може бути фактор некрозу пухлини альфа (TNF- $\alpha$ ), який належить до групи прозапальних цитокінів. **Мета:** оцінити вплив адемолу порівняно з амантадиною сульфатом на рівень TNF- $\alpha$  в головному мозку щурів із ЧМТ. **Матеріали та методи.** Дослідження проведено на щурах-самцях. Експериментальну модель тяжкої ЧМТ створювали з використанням пневматичного пістолета. Терапевтичну дію адемолу при ЧМТ оцінювали в дозі 2 мг/кг внутрішньовенно з інтервалом 2 рази на день протягом восьми діб. Як лікарський засіб для контрольної групи застосовували 0,9% NaCl в дозі 2 мл/кг, а препарат порівняння — амантадину сульфат — у дозі 5 мг/кг. Для визначення ефективності досліджуваних препаратів використовували рівень TNF- $\alpha$ . **Результати.** Порівняльний аналіз ефективності адемолу та амантадину сульфату на восьму добу спостереження показав, що в групі тварин, яким застосовували адемолу, уміст TNF- $\alpha$  в тканинах мозку виявився меншим на 57,3 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи контрольної патології, його медіана становила 0,804 нг/г сухої тканини (95% довірчий інтервал (ДІ) 0,732–0,844). За протизапальним ефектом амантадину сульфат значно поступався адемолу. Так, у групі щурів, які отримували амантадину сульфат, рівень TNF- $\alpha$  в тканинах мозку виявився меншим на 43,5 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи контрольної патології, його медіана становила 1,02 нг/г сухої тканини (95% ДІ 1,00–1,11). **Висновки.** Експериментальне моделювання травматичного ураження головного мозку у щурів супроводжувалось індукцією запальної реакції в тканинах головного мозку. Одним із патогенетичних механізмів захисної дії на головний мозок при ЧМТ є спроможність адемолу пригнічувати розвиток запальної реакції в тканинах травмаційно ураженого головного мозку шляхом зменшення рівня TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ).

**Ключові слова:** травматичне ураження мозку; фактор некрозу пухлини альфа; запалення

### Вступ

Травми, вбивства і самогубства є провідною причиною смерті в Сполучених Штатах Америки та Європейському Союзі в осіб віком молодше 45 років [1]. Частота черепно-мозкової травми (ЧМТ) становить 1,8–5,4 випадку на 1000 населення і, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, відзначається її щорічне зростання в середньому на 2 % [1, 2]. Тяжкі форми ЧМТ діагностують у 20–40 % хворих із ЧМТ,

при цьому з кожним роком спостерігається тенденція до збільшення числа більш тяжких уражень мозку [1, 3].

Сучасні статистичні дані свідчать про те, що ЧМТ є основною та найпоширенішою причиною інвалідизації і смертності осіб віком 20–40 років, коли смертність від ЧМТ у 10 разів вища, ніж від серцево-судинних захворювань, і в 20 разів вища, ніж від злоякісних новоутворень [4, 5].

© «Медицина невідкладних станів» / «Медицина неотложных состояний» / «Emergency Medicine» («Medicina неотложных состо́яний»), 2020

© Видавець Заславський О.Ю. / Издатель Заславский А.Ю. / Publisher Zaslavsky O.Yu., 2020

Для кореспонденції: Семененко Святослав Ігорович, кандидат медичних наук, доцент кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна, e-mail: semenenkos1@rambler.ru; контактний тел.: +38 (067) 747-17-48.

For correspondence: Semenenko Sviatoslav, PhD, Associate professor at the Department of Clinical Pharmacy and Clinical Pharmacology, National Pirogov Memorial Medical University, Pirogov st., 56, Vinnytsia, 21018, Ukraine; e-mail: semenenkos1@rambler.ru; phone +38 (067) 747-17-48.

Сьогодні відомо, що у патогенезі ЧМТ важлива роль належить запально-токсичним процесам, які становлять основу вторинного ураження тканин мозку [6]. Лабораторними маркерами запально-токсичної стадії ЧМТ є збільшення вмісту в крові циркулюючих імунних комплексів, С-реактивного білка, активація інтерлейкінового каскаду із залученням інтерлейкіну-1b, фактора некрозу пухлини альфа (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкінів-6 та -8 (ІЛ-6 та ІЛ-8) [6–9].

Доцільним було дослідити вплив нового церебропротектору, а саме похідного адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемомол) на рівень TNF- $\alpha$  в головному мозку щурів при ЧМТ.

**Мета:** оцінити вплив адемомолу порівняно з амантадиною сульфатом та 0,9% розчином NaCl на рівень TNF- $\alpha$  в тканинах головного мозку при моделюванні ЧМТ у щурів.

## Матеріали та методи

Дослідження проведено на білих щурах-самцях масою 160–190 г, які перебували у стандартних умовах віварію з дотриманням етичних норм проведення експериментальних досліджень згідно із «Загальними принципами роботи на тваринах», затвердженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) та Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 26.02.2006 р.

Експериментальну модель ЧМТ викликали дією потоку вуглекислого газу під тиском, що створювали з використанням газобалонного пневматичного пістолета марки «Байкал МР-654К» (Іжевськ, Російська Федерація, номер сертифіката РОСС RU МЖ03.В02518) та балонів вуглекислого газу (маса зрідженого CO<sub>2</sub> — 12 г) під тиском (Crosman, США, номер серії 456739). Щурам в умовах пропофолового наркозу (60 мг/кг), після катетеризації стегнової вени та налагодження можливості здійснювати інфузію через інфузомат, здійснювали правобічну кістково-пластичну трепанацію черепа в проекції середньої мозкової артерії з діаметром отвору 5 мм<sup>2</sup>. Після фіксації щура в положенні на животі вниз головою здійснювали постріл з фіксованої відстані (постріл впритул), кістковий фрагмент на окісті разом із апоневрозом повертали на місце і рану зашивали пошарово. Таким чином моделювалася ЧМТ тяжкого ступеня.

Терапевтичну дію адемомолу («Дарниця», Україна; 10 ампул по 5 мл концентрацією 1 мг/мл) на модельній ЧМТ оцінювали при застосуванні дози 2 мг/кг внутрішньовенно. Лікування відбувалось шляхом повільної внутрішньовенної інфузії інфузоматом, яка тривала 2 години з інтервалом 2 рази на день (через кожні 12 год) упродовж восьми діб. Лікування розпочинали через 1 год після моделювання патологічного стану. Псевдооперованих тварин піддавали всім втручанням (наркоз, розріз шкіри, кістково-пластична трепанація черепа), за винятком маніпуляцій, які безпосередньо могли б призвести до травматичного ураження мозку, що нівелювало вплив травматичних умов експерименту. Щурам також вводили еквівалентну кількість 0,9% розчину NaCl до дози адемомолу. Як лікарські засоби для контрольної групи застосовували 0,9% розчин NaCl в дозі 2 мл/кг в/в у тому самому режимі, а для групи порівняння — амантадину сульфат (Merz Pharmaceuticals, Швейцарія; 200 мг/500 мл) на модельній ЧМТ оцінювали при застосуванні дози 5 мг/кг внутрішньовенно у тому ж режимі.

TNF- $\alpha$  у великих півкулях головного мозку щурів досліджували методом імуноферментного аналізу з використанням набору ВАТ «Цитокин» (Російська Федерація).

Кількісні дані обробляли за допомогою програми статистичної обробки StatPlus 2009. Використовували параметричний t-критерій Стьюдента у випадках нормального розподілу варіаційного ряду, непараметричний W-критерій Уайта — за його відсутності, парний T-критерій Вілкоксона — для визначення змін у динаміці всередині групи, кутове перетворення Фішера [10] — при обліку результатів в альтернативній формі (наявність або відсутність певної ознаки). Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

## Результати

З'ясувалось, що у псевдооперованих тварин медіана вмісту TNF- $\alpha$  в тканині мозку становить 0,669 нг/г сухої тканини (95% довірчий інтервал (ДІ) 0,638–0,738), а перцентильний інтервал P<sub>25</sub>–P<sub>75</sub> знаходився в діапазоні 0,664–0,733 нг/г сухої тканини (табл. 1). Станом на восьму добу після ЧМТ рееструвалося вірогідне зростання рівня TNF- $\alpha$  в тканині мозку в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ), його медіана становила 1,85 нг/г сухої тканини (95% ДІ 1,80–1,93), а перцентильний інтервал P<sub>25</sub>–P<sub>75</sub> знаходився в діапазоні 1,83–1,89 нг/г сухої тканини.

**Таблиця 1. Вплив курсової інфузії адемомолу та амантадину сульфату на рівень TNF- $\alpha$  у головному мозку щурів на восьму добу черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ ,  $n = 7$ )**

Дослідні групи	Рівень TNF- $\alpha$	
	нг/мл гомогенату мозку	нг/г сухої тканини
Псевдооперовані тварини + 0,9% розчин NaCl	34,50 $\pm$ 0,86	0,690 $\pm$ 0,017
ЧМТ + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	93,20 $\pm$ 0,82 <sup>o</sup>	1,86 $\pm$ 0,02 <sup>o</sup>
ЧМТ + адемомол, 2 мг/кг в/в	39,70 $\pm$ 0,90 <sup>o*</sup>	0,795 $\pm$ 0,018 <sup>o**</sup>
ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в	52,30 $\pm$ 1,03 <sup>o*</sup>	1,05 $\pm$ 0,02 <sup>o*</sup>

**Примітки:** <sup>o</sup> —  $p < 0,05$  відносно псевдооперованих тварин; <sup>\*</sup> —  $p < 0,05$  відносно групи контрольної патології; <sup>\*\*</sup> —  $p < 0,05$  відносно амантадину сульфату.

У тварин, яким застосовували адемом, вміст TNF- $\alpha$  в тканинах мозку виявився меншим на 57,3 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи контрольної патології, його медіана становила 0,804 нг/г сухої тканини (95% ДІ 0,732–0,844), а перцентильний інтервал  $P_{25}$ – $P_{75}$  знаходився в діапазоні 0,763–0,829 нг/г сухої тканини. За протизапальним ефектом амантадину сульфат значно поступався адемолу. Так, у групі шурів, які отримували амантадину сульфат, рівень TNF- $\alpha$  в тканинах мозку виявився меншим на 43,5 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи контрольної патології, його медіана дорівнювала 1,02 нг/г сухої тканини (95% ДІ 1,00–1,11), а перцентильний інтервал  $P_{25}$ – $P_{75}$  знаходився в межах 1,02–1,09 нг/г сухої тканини.

## Обговорення

Відомо, що цілісна відповідь організму на травматичне ураження ЦНС здійснюється шляхом взаємодії нервової, імунної та ендокринної систем, які використовують для цього схожі сигнальні молекули та рецепторні мішені (нейротрансмітери, цитокіни, фактори росту, гормони) [11, 12]. Експериментально було доведено, що розвиток модельної ЧМТ супроводжується індукцією запальної реакції в тканинах головного мозку. Виявлення біомаркерів запалення в умовах ЧМТ може стати цінним фактологічним доповненням до поліпшення якості прогнозування фіналів травми головного мозку [13]. Одним із таких маркерів може бути TNF- $\alpha$ , який належить до групи прозапальних цитокінів. TNF- $\alpha$  поряд з інтерлейкінами-1 (альфа і бета) та інтерлейкіном-6 (ІЛ-1 $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6) продукується макрофагами, тканинними моноцитами, мікрогліальними клітинами, ендотеліоцитами, астроцитами і нейронами мозку як відповідь на гостру або хронічну ішемію [12]. В експериментах на тваринах різних видів (щури та монгольські піщанки) показано, що високі рівні прозапальних цитокінів TNF- $\alpha$ , ІЛ-1 $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6 чинять нейротоксичну дію, що збільшує травматичне ураження нервової тканини, викликаючи загибель нервових клітин та гальмуючи нейрогенез [14, 15].

ЧМТ характеризується ураженням тканин головного мозку, що супроводжується набряком головного мозку, підвищенням проникності гематоенцефалічного бар'єра, розвитком посттравматичних когнітивних порушень. ЧМТ може спричинити розвиток глутамат-індукованої цитотоксичності, активує вивільнення запальних цитокінів з клітин мозку (мікроглії, нейронів, астроцитів), активує оксидантний та нітрозативний стрес, що в кінцевому підсумку призводить до апоптозу чи некрозу клітин головного мозку [12].

Застосована фармакотерапія в експерименті похідного адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) та амантадину сульфату різною мірою зменшувала активність запальної реакції в травматично уражених тканинах головного мозку. Найефективнішим протизапальним агентом при експериментальній ЧМТ виявився адемом. Аналіз лікувальної ефективності адемолу на восьму добу спостереження показав, що в групі тварин із ЧМТ, яким

застосовували цей препарат, вміст TNF- $\alpha$  в тканинах мозку виявився меншим на 57,3 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи контролю та на 32 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи амантадину сульфату. Отже, серед нейроцитопротекторних властивостей адемолу слід виділити його здатність запобігати розвитку запальної реакції в тканинах головного мозку за умов ЧМТ.

## Висновки

1. Експериментальне моделювання травматичного ураження головного мозку у щурів супроводжувалось індукцією запальної реакції в тканинах головного мозку.

2. Одним із патогенетичних механізмів захисної дії на головний мозок при ЧМТ є спроможність адемолу пригнічувати розвиток запальної реакції в тканинах травматично ураженого головного мозку шляхом зменшення рівня TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ).

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

## Список літератури

1. Majdan M., Plancikova D., Brazinova A., Rusnak M., Nieboer D., Feigin V., Maas A. *Epidemiology of traumatic brain injuries in Europe: a cross-sectional analysis. Lancet Public Health. 2016 Dec. 1(2). e76-e83. doi: 10.1016/S2468-2667(16)30017-2.*
2. Carney N., Totten A. M., O'Reilly C. *Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury 4th Edition Reviewed for evidence-based integrity and endorsed by the American Association of Neurological Surgeons and the Congress of Neurological Surgeons. September 2016/https://braintrauma.org/uploads/03/12/Guidelines for Management of Severe TBI 4th\_Edition.pdf.*
3. Abou El Fadl M.H., O'Phelan K.H. *Management of Traumatic Brain Injury: An Update. Neurosurg. Clin. N. Am. 2018. № 29(2). P. 213-221.*
4. Llompарт-Pou J.A., Pérez-Bárcena J. *Geriatric traumatic brain injury: An old challenge. Med. Intensiva. 2019 Jan-Feb. 43(1). 44-46.*
5. Gardner R. C., Dams-O'Connor K., Morrissey M. R., Manley G.T. *Geriatric Traumatic Brain Injury: Epidemiology, Outcomes, Knowledge Gaps, and Future Directions. J. Neurotrauma. 2018 Feb 15. doi: 10.1089/neu.2017.5371.*
6. Коровка С.Я. *Механізми формування синдрому ендогенної інтоксикації при травматичній хворобі головного мозку: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія». С.Я. Коровка. Донецьк, 2013. 20 с.*
7. Hatefi M., Behzadi S., Dastjerdi M.M., Ghahnavieh A.A., Rahmani A., Mahdizadeh F., Hafezi Ahmadi M.R., Asadollahi K. *Correlation of Homocysteine with Cerebral Hemodynamic Abnormality, Endothelial Dysfunction Markers, and Cognition Impairment in Patients with Traumatic Brain Injury. World Neurosurg. 2017. № 97. P. 70-79. doi: 10.1016/j.wneu.2016.09.080.*
8. Храпов Ю.В., Поройский С.В. *Роль биомаркеров повреждения вещества головного мозга в диагностике, оценке эффективности лечения и прогнозирования исходов тяжелой черепно-мозговой травмы. Волгоградский научно-медицинский журнал. 2013. № 3. С. 10-20.*

9. Ved R., Zaben M. Biomarkers for traumatic brain injury. 2018. № 10. P. 855-852.

10. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: МОРИОН, 2000. 320 с.

11. Echeverry R., Wu F., Haile W.B. The cytokine tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis and its receptor fibroblast growth factor-inducible 14 have a neuroprotective effect in the central nervous system. *J. Neuroinflammation*. 2012. № 9. P. 45-52.

12. Werner C., Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Br. J. Anaesth.* 2007. № 99. P. 4-9.

13. Білошицький В.В., Кобилецький О.Я. Можливості біохімічних біомаркерів як засобів прогнозування перебігу черепно-мозкової травми. *Український нейрохірургічний журнал*. 2015. № 1. С. 4-14.

14. Селянина Н.В., Каракулова Ю.В. Роль маркеров воспаления и серотонина в патогенезе черепно-мозговой травмы. Сборник научных трудов научно-практической конференции неврологов, нейрохирургов и детских неврологов Кировской области. Киров, 2012. С. 44-49.

15. Clausen F., Hänell A., Björk M., Hillered L., Mir A. K., Gram H., Marklund N. Neutralization of interleukin-1beta modifies the inflammatory response and improves histological and cognitive outcome following traumatic brain injury in mice. *Eur. J. Neurosci*. 2009. Vol. 30(3). P. 385-396.

Отримано/Received 16.01.2020

Рецензовано/Revised 28.01.2020

Прийнято до друку/Accepted 14.02.2020 ■

Семененко С.И., Семененко А.И., Полищук С.С., Вознюк Л.А., Семененко И.Ф.  
Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова, г. Винница, Украина

### Влияние адемола на уровень фактора некроза опухоли $\alpha$ в головном мозге крыс с модельным травматическим поражением мозга

**Резюме. Актуальность.** Выявление биомаркеров воспаления в условиях черепно-мозговой травмы (ЧМТ) может стать ценным дополнением к улучшению качества прогнозирования исходов травмы головного мозга. Одним из таких маркеров может быть фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ), который относится к группе провоспалительных цитокинов. **Цель:** оценить влияние адемола по сравнению с амантадина сульфатом на уровень TNF- $\alpha$  в головном мозге крыс с ЧМТ. **Материалы и методы.** Опыты проведены на крысах-самцах. Экспериментальную модель тяжелой ЧМТ создавали с использованием пневматического пистолета. Терапевтическое действие адемола при ЧМТ оценивали в дозе 2 мг/кг с интервалом 2 раза в день в течение восьми суток. В качестве лекарственного средства для контрольной группы применяли 0,9% NaCl в дозе 2 мл/кг, а препарата сравнения — амантадина сульфат в дозе 5 мг/кг. Для определения эффективности исследуемых препаратов использовали уровень TNF- $\alpha$ . **Результаты.** Сравнительный анализ эффективности адемола и амантадина сульфата на восьмые сутки наблюдения показал, что в группе животных,

у которых применяли адемола, содержание TNF- $\alpha$  в тканях мозга оказалось меньше на 57,3 % ( $p < 0,05$ ) относительно группы контрольной патологии, его медиана составила 0,804 нг/г сухой ткани (95% доверительный интервал (ДИ) 0,732–0,844). По противовоспалительному эффекту амантадина сульфат значительно уступал адемолу. Так, в группе крыс, получавших амантадина сульфат, уровень TNF- $\alpha$  в тканях мозга оказался меньше на 43,5 % ( $p < 0,05$ ) относительно группы контрольной патологии, его медиана равна 1,02 нг/г сухой ткани (95% ДИ 1,00–1,11). **Выводы.** Экспериментальное моделирование травматического поражения головного мозга у крыс сопровождалось индукцией воспалительной реакции в тканях головного мозга. Одним из патогенетических механизмов защитного действия на головной мозг при ЧМТ является способность адемола подавлять развитие воспалительной реакции в тканях травматически поврежденного головного мозга путем уменьшения уровня TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** травматическое поражение мозга; фактор некроза опухоли альфа; воспаление

S.I. Semenenko, A.I. Semenenko, S.S. Polishchuk, L.A. Vozniuk, I.F. Semenenko  
National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine

### Influence of ademol on the level of tumor necrosis factor $\alpha$ in the brain of rats with model of traumatic brain injury

**Abstract. Background.** Identifying biomarkers of inflammation in traumatic brain injury (TBI) can be a valuable factual complement to improving the quality of prediction for brain injury outcomes. One such marker may be tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), which belongs to the group of proinflammatory cytokines. The purpose was to evaluate the effect of ademol compared with amantadine sulfate on TNF- $\alpha$  level in the brain of TBI rats. **Materials and methods.** The experiments were performed on male rats. An experimental model of severe TBI was created using a pneumatic gun. The therapeutic effect of ademol in TBI was evaluated at a dose of 2 mg/kg intravenously twice a day for 8 days. As the drug for the control group, 0.9% NaCl was used at a dose of 2 ml/kg, and as the comparison drug — amantadine sulfate at a dose of 5 mg/kg. The level of TNF- $\alpha$  was used to determine the efficacy of the investigated drugs. **Results.** A comparative analysis of the efficacy of ademol and amantadine sulfate on day 8 of observation showed that in

the group of animals treated with ademol, the content of TNF- $\alpha$  in brain tissues has reduced by 57.3 % ( $p < 0.05$ ) compared to the control pathology group, its median was 0.804 ng/g dry tissue (95% confidence interval 0.732–0.844). By the anti-inflammatory effect, amantadine sulfate was significantly inferior to ademol: so, in the group of rats treated with amantadine sulfate, the level of TNF- $\alpha$  in brain tissues was lower by 43.5 % ( $p < 0.05$ ) compared to the control pathology group, its median was 1.02 ng/g dry tissue (95% interval 1.00–1.11). **Conclusions.** Experimental modeling of traumatic brain injury in rats was accompanied by the induction of an inflammatory response in brain tissues. One of the pathogenetic mechanisms of brain protective action in TBI is the ability of ademol to inhibit the development of an inflammatory response in the tissues of traumatically damaged brain by reducing TNF- $\alpha$  level ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** traumatic brain injury; tumor necrosis factor alpha; inflammation