

Результати проспективного подвійного сліпого дослідження фармакологічної активності Церебролізину та інших пептидних препаратів при лікуванні емболічного інсульту

Відкриття пептидних препаратів свого часу стало проривом у лікуванні захворювань центральної нервової системи. Нині продовжуються дослідження цих лікарських засобів, які можуть значно поліпшувати прогноз при такому тяжкому ураженні, як інсульт. До вашої уваги представлено огляд статті L. Zhang et al. «Prospective, double blinded, comparative assessment of the pharmacological activity of Cerebrolysin and distinct peptide preparations for the treatment of embolic stroke», опублікованої в Journal of the Neurological Sciences (2019; 398: 22-26).

Інсульт є найпоширенішою причиною інвалідності, що призводить до розвитку сенсорних, рухових та координаційних порушень у 65% пацієнтів [1, 2]. Фармакологічні втручання за невідкладної допомоги особам з інсультом спрямовані на відновлення кровотоку з метою обмеження пошкодження мозку та постінсультних ускладнень, а терапія нейропротекторними препаратами застосовується для підтримання цих ефектів. Церебролізін® є нейропептидним засобом, дія якого подібна до такої ендогенних нейротрофічних факторів завдяки захисту мозку від шкідливого впливу ішемічного каскаду і внеску в процеси реорганізації головного мозку. Доклінічні дослідження продемонстрували такі аспекти модульовальної дії Церебролізину на нейропластичність, як:

- ремодельовання синаптичних зв'язків [3-5];
- полегшення синаптичної передачі [6-9];
- ріст нейритів [10, 11];
- олігодендрогенез [12, 13];
- нейрогенез [14-19];
- сприятливий вплив на ендогенні процеси відновлення мозку [13-15, 17, 19].

На експериментальних моделях інсульту було продемонстровано, що при гострому інсульті Церебролізін® дозозалежно зменшує об'єм вогнища ішемічного ураження та неврологічну симптоматику.

Наступні випробування показали, що відстрочене лікування Церебролізином прискорює відновлення після інсульту завдяки стимуляції сигнальних шляхів Sonic hedgehog і PI3K/Akt, які підсилюють процеси ремодельовання мозку. Більше того, у рандомізованих клінічних дослідженнях було продемонстровано позитивний вплив лікування Церебролізином на відновлення після інсульту при відмінному профілі безпеки та переносимості [20-25].

Накопичено всебічні наукові дані, які демонструють нейропротекторні та нейрорепаративні ефекти Церебролізину в різних модельних системах інсульту та черепно-мозкової травми [13, 15, 26-29]. На подібне претендують інші лікарські засоби, доступні на ринку, однак докази щодо їхньої ефективності досить обмежені або нечіткі. На думку авторів, немає публікацій про випробування, в яких би провели пряме порівняння ефекту окремих нейропротекторних пептидів

для лікування інсульту та інших типів черепно-мозкової травми. Тому вони здійснили перше пряме порівняльне експериментальне дослідження із проспективним сліпим рандомізованим контрольованим плацебо дизайном для оцінки ефективності чотирьох пептиддергичних препаратів щодо функціональних результатів після інсульту та об'єму вогнища інфаркту в аналогічній моделі інсульту.

Матеріали та методи

Усі експериментальні процедури були проведені згідно з рекомендаціями Національного інституту охорони здоров'я США (NIH) щодо утримання та використання лабораторних тварин. Також вони були схвалені Комітетом з утримання та використання лабораторних тварин лікарні Генрі Форда (Детройт, США) [30].

Дизайн експерименту

У дослідженні застосовували проспективний рандомізований контрольований плацебо сліпий дизайн. Рандомізація ґрунтувалася на змінному розмірі блоку і генерувалася за допомогою програмного забезпечення nQuery3.0. Приготування та введення препаратів, а також збирання та аналіз даних проводили незалежні працівники, які не були залучені до випробування.

Тваринна модель

Дорослим самцям шурів лінії Вістар (n=115) із масою тіла 350-400 г проводили емболічну оклюзію правої середньої мозкової артерії (СМА) [31, 32]. Тромби з донорської крові нормальних шурів отримували за 24 год до оклюзії СМА. За допомогою модифікованого катетера PE-50, заведеного під контролем із застосуванням хірургічного мікроскопа з правої зовнішньої у внутрішню сонну артерію до початку СМА, вводили згусток довжиною 40 мм і 2-5 мкл фізіологічного розчину, після чого катетер негайно виводили. Розріз зашивали, а шурам дали змогу відновитися після анестезії.

Експериментальні групи та критерії включення у дослідження

Шури були рандомізовані в одну з п'яти експериментальних груп (по 23 тварини), що відрізнялися за терапевтичним втручанням:

1. Когністар® (церебропротейну гідролізат) у дозі 2,5 мл/кг.

Таблиця 1. Досліджувана популяція, вихідні характеристики і рівень смертності								
Лікування	n	Маса тіла (г)						Смертність
		Д0	Д1	Д7	Д14	Д21	Д28	
Фізрозчин	21	376±20	333±23	330±29	352±36	374±43	376±48	5% (1 з 21)
Церебролізін®	22	376±17	334±26	339±37	358±50	386±56	412±60	5% (1 з 22)
Церебролізат®	20	382±17	332±25	328±50	348±59	372±68	398±70	5% (1 з 20)
Когністар®	21	376±18	328±19	319±27	332±43	352±56	377±60	10% (2 з 21)
Кортексин®	20	386±15	329±19	315±33	327±44	356±50	383±49	

Примітка: Д – день дослідження.

Таблиця 2. Неврологічний функціональний результат на першу добу після оклюзії СМА				
Лікування	Шкала mNSS (бали)	Тест на видалення клейкої стрічки (с)	Тест на прослизання лапи (частка промахів лівою лапою, %)	Значення р (на основі результатів узагальненого тесту)
Фізрозчин	10,6±1,2	113,1±14,6	28,9±6,8	0,12 (проти експериментальних груп)
Церебролізін®	9,6±2,5	98,2±26,9	26,3±8,3	0,31 (проти фізрозчину)
Церебролізат®	11,0±1,3	116,0±9,9	30,5±6,2	0,23 (проти фізрозчину)
Когністар®	11,0±1,3	115,0±12,7	29,4±5,0	0,45 (проти фізрозчину)
Кортексин®	11,3±1,0	119,0±2,2	31,2±5,3	0,08 (проти фізрозчину)

Примітка: результати представлено у вигляді середньої кількості балів ± стандартне відхилення.

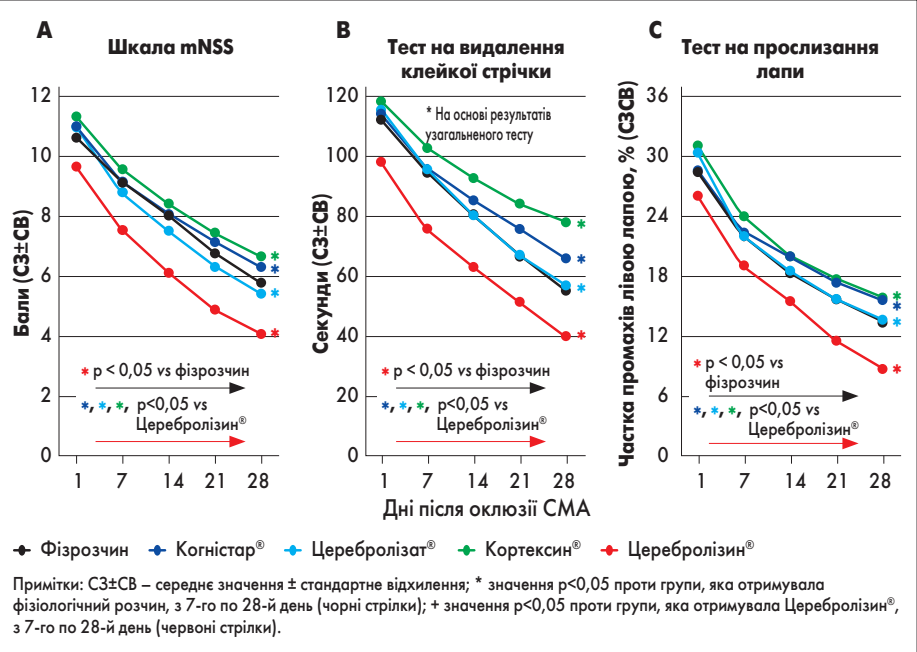


Рис. 1. Показники неврологічного функціонального відновлення: значиме поліпшення загальних неврологічних функцій унаслідок лікування Церебролізином на 7, 14, 21 і 28-й дні після оклюзії СМА

2. Церебролізат® (прим. ред.: Церебролізат зареєстровано в Україні під торговою маркою **Церегін**) – гідролізат головного мозку великої рогатої худоби та свиней, що містить пептиди й амінокислоти, у дозі 2,5 мл/кг.

3. Кортексин® у дозі 1,7 мг/кг.

4. Церебролізін® (пептидний препарат, що виробляється з головного мозку свиней) по 2,5 мл/кг.

5. Фізіологічний розчин у дозі 1 мл на шура.

Дозування визначали згідно з інструкцією для застосування відповідного препарату і адаптували до тваринної моделі, як описано раніше [29]. Внутрішньочеревний шлях введення був обраний на основі продемонстрованої в різних дослідженнях на тваринах терапевтичної ефективності церебролізину та інших зареєстрованих для продажу пептиддергичних засобів у формі інтраперитонеальних ін'єкцій [29, 33-35]. Перед початком лікування (вихідний рівень) неврологічні симптоми оцінювали через 3 години після оклюзії СМА, використовуючи 5-бальну шкалу Zea-Longa [36]. Тварини з оцінкою за Zea-Longa ≥ 2 бали (помірний до тяжкого неврологічний дефіцит) отримували лікування. Шури, які загинули за 24 год після оклюзії СМА (до першого неврологічного функціонального тесту), були виключені з наступних аналізів.

Досліджуваний засіб постачався в однакових непрозорих шприцах об'ємом 1 мл, позначених належним чином для підтримки осліплення випробування. Лікування починали через 4 год після оклюзії СМА; препарат вводили інтраперитонеально 1 раз на добу протягом 10 днів поспіль.

Поведінкові тести

Функціональний результат після інсульту оцінювали щотижня протягом місяця за допомогою модифікованої шкали для визначення тяжкості неврологічного дефіциту (mNSS), тесту на видалення клейкої стрічки (Adhesive Removal Test) та тесту на прослизання лапи (Foot-Fault Test), починаючи через день після здійснення оклюзії СМА. Дані щодо груп шурів були замаскованими для дослідника [14]. Шкала mNSS дозволяє оцінити моторні, сенсорні, балансові та рефлексорні функції від 0 (норма) до 18 балів (максимальний дефіцит) [37]. Тест на видалення клейкої стрічки полягає в тому, що на лапу шура наклеюють липку стрічку й визначають час, за який тварина позбавиться неї; він дозволяє оцінити соматосенсорне нерозпізнавання при двобічній тактильній стимуляції [38]. Для кожного шура в день тестування реєстрували середній час, необхідний для видалення подразника з контралатеральної (лівої) передньої кінцівки (час закінчення – 120 с). Тест на прослизання лапи дозволяє оцінити дисфункцію реакції передніх кінцівок на тактильну й пропріорецептивну стимуляцію [39]. Реєстрували загальну кількість кроків

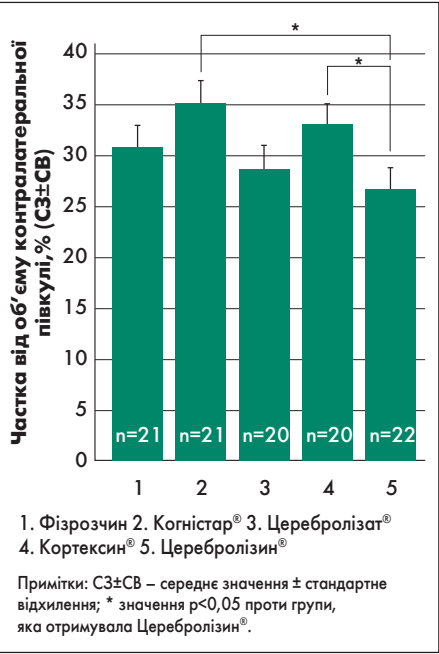


Рис. 2. Кількісна оцінка об'єму вогнища інфаркту через 28 днів після оклюзії СМА

(переміщення передніх кінцівок), які шура зробив на поверхні сітки, і кількість промахів (падінь або прослизань) для лівої передньої кінцівки, представляючи дані як частку промахів лівої кінцівки щодо загальної кількості кроків.

Гістологічне визначення об'єму вогнища інфаркту

Об'єм вогнища інфаркту визначали за допомогою 7 забарвлених гематоксиліном та еозинном коронарних зрізів, зроблених для кожного із включених у дослідження шурів після смерті або наприкінці випробування (28 днів після оклюзії СМА). Дані представлено як частки об'єму іпсилатерального однічного ураження від об'єму контралатеральної півкулі [40, 41].

Статистичний аналіз

Визначену на початку дослідження масу тіла шурів використовували для перевірки міжгрупового балансу до рандомізації. Мінливість маси було включено в аналіз результатів як коваріату, якщо був наявний дисбаланс між групами. Повторний аналіз вимірювань або аналіз дисперсії та коваріації (ANCOVA) використовували для вивчення змін маси у групах із часом. Для оцінки безпеки застосовували логарифмічний ранговий критерій / метод Каплана – Меєра для перевірки відмінностей за смертністю між групами.

Для оцінки міжгрупових відмінностей за функціональним відновленням був використаний узагальнений тест, згідно з яким в оціночне рівняння включали результати всіх трьох вищевказаних поведінкових тестів

(шкала mNSS, тест на видалення клейкої стрічки, тест на прослизання лапи) на 1, 7, 14, 21 і 28-й дні дослідження [42-45].

Здійснюючи аналіз популяції всіх рандомізованих тварин, які отримали принаймні одну дозу досліджуваного препарату (ІТТ-аналіз), ранню смерть або погіршення стану, що перешкоджало функціональному тестуванню, визначали як найгірші результати. Отримані дані оцінювали щодо нормальності й ранжували, якщо вони не були належним чином розподілені. Групи, в яких тварини отримували Церебролізін® і фізіологічний розчин, вважалися контрольними, а дані щодо останньої групи застосовували для валідації ефекту Церебролізіну та інших інтервенційних препаратів. Спочатку проаналізували загальний груповий вплив, а потім, якщо він був достовірним при рівні значимості 0,05, здійснювали парні порівняння. Будь-який аналіз підгруп вважався попереднім, якщо не спостерігалось загального групового ефекту.

Первинні (показники узагальненого тесту на основі трьох поведінкових тестів) та вторинні результати (об'єм вогнища ураження на 28-й день) були проаналізовані за допомогою 9-ї версії системи статистичного аналізу з використанням PROC GENMOD. Метод CONTRAST застосовували для оцінки середньої різниці між двома групами на основі рангових даних. Значуще функціональне поліпшення спостерігалось, якщо середня ранжована різниця була негативною зі значенням $p < 0,05$ проти контрольної групи. Подібним чином узагальнене оцінювальне рівняння / дисперсійний аналіз (ANOVA) використовували для вивчення впливу лікування на об'єм вогнища інфаркту на 28-й день.

Результати

Досліджувані популяції, вихідні характеристики, безпека та смертність
Загалом 115 щурів (n=23 для кожної групи) були рандомізовані до 5 груп лікування. Щурів з оцінками за шкалою Zea-Longa < 2 (n=4) або тих, які загинули (n=7) протягом 24 год після оклюзії СМА до будь-яких неврологічних функціональних тестів, виключали з дослідження. В аналіз результатів увійшли дані 104 щурів (табл. 1). Серед них 7 щурів загинули через 2-3 дні після оклюзії СМА. Рівні смертності між групами були зіставними. Показники маси тіла були збалансовані між групами на вихідному рівні, до оклюзії СМА. Крім того, масу тіла як загальний показник стану та безпеки тварин також реєстрували щотижня, починаючи з 1-го дня після оклюзії СМА. Хоча всі тварини набирали вагу поступово, з часом не було відмінностей у групах за цим показником.

Неврологічний функціональний результат

Через день після оклюзії СМА у всіх щурів виявляли неврологічний функціональний дефіцит подібного ступеня (табл. 2). Із 7-го дня функціональні результати щурів, які отримували Церебролізін®, значно перевершували такі у щурів, яким проводили лікування фізіологічним розчином, у всі контрольні моменти часу (рис. 1). **Функціональні показники в щурів, у яких застосовували Когністар®, Церебролізат® або Кортексин®, були зіставними з такими у тварин, яким вводили фізіологічний розчин (без значущої різниці в будь-який контрольний момент часу), і значно гіршими, ніж у тварин, що отримували Церебролізін®.**

Об'єм вогнища інфаркту

Оцінений непрямим методом об'єм вогнища інфаркту на 28-й день після оклюзії СМА становив $26,5 \pm 2,3\%$ для тварин, що отримували Церебролізін®, $28,5 \pm 2,4\%$ – Церебролізат®, $30,8 \pm 2,1\%$ – фізіологічний розчин, $33,5 \pm 1,9\%$ – Кортексин® і $34,7 \pm 2,0\%$ – Когністар®. Критерій Фішера з числом ступенів свободи 4 показав загальний ефект лікування ($p < 0,0001$). Аналіз підгруп продемонстрував, що немає істотної різниці в об'ємах уражень серед тварин, які отримували Кортексин® ($p = 0,38$), Церебролізат® ($p = 0,45$), Когністар® ($p = 0,19$) або Церебролізін® ($p = 0,14$), і тварин, яким вводили фізіологічний розчин. Однак у щурів, які отримували Церебролізін®, були значно менші об'єми вогнищ ураження, ніж при використанні Когністарту (на 30%, $p = 0,004$) або Кортексину (на 26%, $p = 0,018$) (рис. 2).

Обговорення

Автори зазначають, що дослідження вперше дозволило порівняти ефективність різних нейропептидних препаратів щодо поліпшення функціонального результату в щурів після інсульту. Дизайн дослідження строго відповідав рекомендаціям, прийнятим під час проведення

VIII Академічного круглого столу із проблем лікування інсульту (STAIR-VIII) [46, 47].

Серед досліджуваних препаратів лише Церебролізін® значуще поліпшив функціональний результат порівняно з фізіологічним розчином (див. рис. 1). Ці дані співпадають із результатами клінічних випробувань, в яких оцінювали вплив Церебролізіну на функціональне відновлення у поєднанні з реабілітацією [20, 21]. У цих дослідженнях лікування Церебролізином у добовій дозі 30 мл протягом 21 дня поспіль сприяло реабілітації та відновленню моторних функцій. Важливо зазначити, що такі терапевтичні ефекти спостерігалися навіть тоді, коли терапію Церебролізином було розпочато в період тривалістю до 8 днів після виникнення інсульту. Тобто сприятливий вплив Церебролізіну на відновлення після інсульту був, очевидно, зумовлений не ранньою нейропротективною дією [20]. Дійсно, в низці експериментальних досліджень було показано, що лікування Церебролізином надійно сприяє множинним процесам ремоделювання мозку, включно з ангиогенезом, нейрогенезом, олігодендрогенезом і аксональним ростом, які є визначальними для неврологічного відновлення після інсульту [48, 49]. Таким чином, Церебролізін® стимулює множинні процеси відновлення/ремоделювання

головного мозку, які в сукупності сприяють відновленню після інсульту.

Раніше було продемонстровано, що Церебролізін® у вищій дозі (5 мл/кг) значно знижує об'єм вогнища інфаркту при порівнянні з щурами, яким вводили фізіологічний розчин [28]. Проте автори зазначають, що хоча в даному дослідженні у тварин, які отримували Церебролізін®, спостерігався найменший об'єм вогнища інфаркту серед груп, різниці між групами Церебролізіну і фізіологічного розчину не була значущою. Ці та інші попередні результати свідчать про те, що нейропротекторні ефекти Церебролізіну можуть бути виразнішими у разі застосування вищих доз та/або якомога більш раннього початку терапії [27, 39]. Незважаючи на це, Церебролізін® значно ефективніше сприяв зменшенню розміру ураження, ніж Когністар® і Кортексин®. До того ж лікування даними пептидними препаратами призвело до тенденції збільшення об'єму ураження порівняно із впливом фізіологічного розчину (рис. 2). Таким чином, немає підстав стверджувати, що пептидні препарати, зокрема Церебролізін®, мали терапевтичний ефект щодо об'єму ураження.

Автори зазначають певні обмеження дослідження. По-перше, принципові відмінності складу й процес виготовлення Церебролізіну

та інших використаних у цьому дослідженні сполук не розглядали. Наприклад, Когністар® і Кортексин® є ліофілізованими порошками, які потребують перед введенням розчинення у стерильній воді або навіть анальгетиках, таких як новокаїн. Рідкий препарат Церебролізат® містить добавку фенол. По-друге, хоча повідомлялося про подібність інших сполук, таких як Когністар® і Церебролізат®, до Церебролізіну щодо різних експериментальних і клінічних проявів, їхні фармакокінетичні/фармакодинамічні характеристики для лікування ішемічного інсульту ще не встановлені. Тому терапевтичні можливості Когністарту, Церебролізату та Кортексину щодо відновлення після інсульту потребують подальшого дослідження.

Підсумовуючи, автори констатують: результати проведених досліджень показали, що **фармакологічна активність мультипептидних препаратів відрізняється, а очевидні функціональні переваги проти контрольного розчину натрію хлориду продемонстровано тільки для Церебролізіну.**

Тож такі препарати не слід розглядати як взаємозамінювані з погляду ефективності та безпеки при лікуванні інсульту.



3

РЕКОМЕНДОВАНИЙ
АВСТРІЙСЬКИМ
КЕРІВНИЦТВОМ ЩОДО
НЕЙРОРЕАБІЛІТАЦІЇ
ПІСЛЯ ІНСУЛЬТУ¹

ДЕМЕНЦІЯ

ІНСУЛЬТ

ЧМТ

Фармакологічна активність
нейропептидних препаратів відрізняється⁷

Церебролізін® – єдиний нейтрофічний препарат,
який достовірно покращує неврологічні виходи⁷

Інші нейропептидні препарати
не можуть заміняти Церебролізін® з погляду
ефективності та безпеки⁷

В 2 рази збільшує шанси пацієнта на виживання²

В 3 рази краще відновлює моторну функцію³

В 3 рази більше пацієнтів повертаються до повної незалежності⁴

Покращує когнітивні функції⁵ та зменшує депресію⁴

Високий рівень безпеки⁶

1. Österreichische Post AG, M207037411 M. MEDMEDIA Verlag, Seidengasse 9/Top 1.1, 1070 Wien, ISSN 2223-0629.2. Heiss W-D, Brainin M, Bornstein NM, Tuomilehto L, Hong Z. Cerebrolysin Acute Stroke Treatment in Asia (CASTA) Investigators. Cerebrolysin in patients with acute ischemic stroke in Asia: results of a double-blind, placebo-controlled randomized trial. Stroke. 2012; 43:630-636.3. Chang et al. Cerebrolysin combined with rehabilitation promotes motor recovery in patients with severe motor impairment after stroke. BMC Neurology (2016) 16:31.4. Muresanu D.F., Heiss W-D, Hoernberg V., Bajenaru O., Hong Z. Cerebrolysin And Recovery After Stroke (CARs) a randomized placebo-controlled double-blind, multicenter trial. Stroke. 2016 Jan; 47(1):151-159.5. Ladurner G, Kahsch P, Mueseler R. Cerebrolysin Study Group. Neuroprotective treatment with cerebrolysin in patients with acute stroke: a randomized controlled trial. J Neural Transm. 2005 Mar; 112(3):415-28. 6. J. Thome et al., Drugs of Today 2012, 48(Supplement A): 63-69. 7. Zhang L. et al. Prospective, double blinded, comparative assessment of the pharmacological activity of Cerebrolysin and distinct peptide preparations for the treatment of embolic stroke // Journal of the Neurological Sciences, 2019; 398: 22-26.

Церебролізін® (CEREBROLYSIN®). Поліпшувальний та моторний препарат. Код АТС N06XB. Розчин для ін'єкцій. 1 мл розчину містить 2152 мг концентрату Церебролізіну (пептидного препарату, що виробляється з мозку свиней). **Показання:** органічні, метаболічні порушення та нейрогенеративні захворювання головного мозку, наслідком хвороба Альцгеймера, ускладнення після інсульту, травматичні пошкодження головного мозку (стані після оперативного втручання на мозку, закріпці черепно-мозкової травми, струс мозку). **Протипоказання:** підвищена чутливість до одного з компонентів препарату, епілепсія, тяжкі порушення функцій нирок. **Побічні реакції.** Побічні реакції в зв'язку з терапією препаратом Церебролізін® відзначаються рідко ($> 1/10000$ – $< 1/1000$) або мають подвійний витіток ($< 1/10000$). При дуже швидкому введенні можливі запаморочення, тремор, головний біль, відчуття жару, посилене потовиділення, серцебиття, мимовільні макропатологічні висипання, кропив'янка, почервоніння шкіри, запалка та біль у горлі. **Фармакологічні властивості.** Церебролізін® стимулює диференціацію клітин і активує незрілі ганглії та відростки, безпосередньо впливає на нейроналіну і синаптичну пластичність, що сприяє поліпшенню когнітивних та рухових функцій. **Спосіб застосування та дози.** Препарат вводять внутрішньовенно або внутрішньом'язово. Тривалість курсу лікування та оптиміальна щоденна доза залежать від стану хворого, патології, яку він має, та його віку. Частіше рекомендована тривалість курсу лікування становить 10-20 днів. Ефективність терапії зазвичай зростає при проведенні повторних курсів. Лікування продовжують доки, доки спостерігається поліпшення стану пацієнта наслідком терапії. **Категорія відпуску.** За рецептом. Повна інформація міститься в інструкції для медичного застосування препарату. **Інформація для фізичців у галузі охорони здоров'я.** Рт. МОЗ України: № UA/9989/01/01, дієсне від 18.03.2014. www.cerebrolysin.com.ua

Австрійська якість.
Нам довіряють більше 2 млн. пацієнтів

Церебролізін®
Возз'єднує нейрони.
Надихає на життя.