

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ ГИМАНТАНА И ДОКСИЦИКЛИНА НА НАРУШЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ ТОКСИНОМ MFTR У МЫШЕЙ C57BL/6

Г. И. Ковалёв, Р. М. Салимов¹

Изучено влияние противопаркинсонического средства гимантана[(2-адамантил)гексаметиленмина] (10 мг/кг внутрь) и/или антибиотика тетрациклинового ряда доксициклина (100 мг/кг), а также нейротоксина MFTR (1-метил-4-фенил-1,2,3,4-тетрагидропиридина, 4 × 20 мг/кг, внутривентриально) на поведение мышей C57BL/6 в крестообразном лабиринте. На 2-е сутки после введения токсина уменьшал двигательную активность мышей по сравнению с эффектом плацебо (0,9 % раствор NaCl). Ни гимантан, ни доксициклин, введенные однократно за 30 мин до инъекции токсина, не влияли на уровень локомоций, а их сочетанное применение нормализовало подвижность животных. Результаты подтверждают значимость процессов воспаления в патогенезе паркинсонизма, а также указывают на целесообразность комплексной фармакотерапии нейродегенеративных расстройств.

Ключевые слова: гимантан, доксициклин, MFTR, мыши C57BL/6, двигательная активность, паркинсонизм

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона — нейродегенеративное заболевание, основную клиническую картину которого составляют нарушения двигательной сферы (тремор, акинезия, изменения походки и осанки и т.п.). Важным элементом формирования патофизиологического ответа на введение MFTR является воспалительная реакция глиальных элементов ткани мозга, способная как противодействовать процессу нейродегенерации нейронов, так и усугублять его [9, 11]. Антибиотики тетрациклинового ряда, которые обладают противовоспалительными свойствами, не связанными с их антимикробным эффектом, способны ослаблять повреждающее действие MFTR на мозг [15, 17, 18], что создаёт предпосылки для их использования в комплексной терапии болезни Паркинсона [6].

В настоящем исследовании оценивали способность антибиотика тетрациклинового ряда доксициклина влиять на противопаркинсонические свойства гимантана [4], который в настоящее время проходит клинические испытания в качестве противопаркинсонического средства [2]. В качестве модели болезни Паркинсона использовали введение токсина 1-метил-4-фенил-1,2,4,6-тетрагидропиридина (MFTR), который вызывает избирательное повреждение nigrostriatalной дофаминовой системы мозга и соответствующие двигательные расстройства [7, 16].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали 55 самцов мышей линии C57BL/6. Мышей содержали в виварии при естественном освещении, свободном доступе к воде и гранулированному сухому корму. Животных содержали в стандартных клетках по 5–8 особей в каждой. В начале эксперимента их возраст составлял 2 месяца.

MFTR (“Sigma-Aldrich”) вводили внутривентриально в дозе 20 мг/кг 4 раза подряд с интервалом 2 ч. Суммарная доза MFTR составляла 80 мг/кг. Доксициклин и гимантан вводили, соответственно, в дозах 100 и 10 мг/кг внутрь с помощью нетравмирующего зонда за 30 мин до первой инъекции MFTR. В качестве плацебо использовали эквивалентный объем физиологического раствора (10 мл/кг). Доза доксициклина была выбрана на основании известных данных о способности доксициклина оказывать противовоспалительное действие, не влияя на двигательную активность и координацию движений [5].

Для оценки исследовательского поведения животных использовали закрытый крестообразный лабиринт [1, 3, 12]. Мышь помещали в центральный отсек лабиринта и в полуавтоматическом режиме регистрировали последовательность её переходов из одного рукава в другой. Тест заканчивался, когда происходило 12 таких переходов. Последующий компьютерный анализ записи позволял выделить ряд показателей поведения. Наиболее информативными из них были следующие: 1) общее время, проведенное мышью в центральном и боковых отсеках лабиринта; этот показа-

¹ Лаборатория радиоизотопных методов исследований (зав. — проф. Г. И. Ковалёв) НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

тель отражает уровень двигательной активности животного, а также характеризует интенсивность обследования новой среды; 2) латентный период начала обследования, то есть первого захода в боковой отсек (изменение только данного показателя отражает уровень тревожности); 3) “длина” первого цикла патрулирования (т.е. посещения всех его четырех отсеков хотя бы один раз), исчисляемая количеством подобных заходов в отсеки; чем большее число заходов требуется мыши, чтобы посетить все 4 боковых рукава (т.е. совершить один цикл патрулирования), тем менее эффективно исследование лабиринта. Данный показатель отражает способность животных к спонтанной ориентации в пространстве.

Эксперимент проводили в изолированном лабораторном помещении с использованием “белого шума” интенсивностью 70 дБ над порогом слышимости человека.

Результаты обрабатывали с помощью пакета программ Statistica с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 2-е сутки после введения МФТР наблюдали уменьшение двигательной активности мышей, что проявлялось увеличением латентного периода первого захода в рукав лабиринта, а также продолжительности пребывания в центральном отсеке и рукавах лабиринта по сравнению с группой, получавшей плацебо (таблица). При этом не изменялось число заходов в рукава при первом патрулировании лабиринта, что свидетельствует о сохранности способности животных к спонтанной ориентации в пространстве.

Как показано другими исследователями, в первые дни после введения МФТР происходит снижение двигательной активности и нарушение координации движений [8, 10], что совпадает по времени с гибелью дофаминергических нейронов в ряде структур мозга

[8, 13]. Одновременно с этим происходит активация процессов неонейрогенеза, которые, начиная со второй недели после введения МФТР, приводят к замещению погибших нейронов вновь образовавшимися нервными клетками [14, 19]. В наших экспериментах на 8-е сутки после введения МФТР также наблюдалось восстановление подвижности животных, поскольку из указанных нарушений сохранялось лишь увеличение продолжительности пребывания в рукавах лабиринта.

Введение доксициклина до МФТР не оказывало статистически значимого влияния на указанные эффекты МФТР. Аналогичным образом однократная инъекция гимантана перед применением МФТР также не оказывала значимого влияния на эффекты МФТР. При сочетанном применении доксициклина и гимантана до МФТР уже на 2-е сутки эксперимента наблюдалось уменьшение продолжительности пребывания в центральном отсеке, а на 8-е сутки — уменьшение продолжительности пребывания в рукавах лабиринта, получавшей только токсин. Следовательно, восстановление двигательной активности мышей происходит в результате воздействия гимантана и доксициклина не на одно патогенетическое звено, а на различные, но действующие в одном направлении.

Следовательно, способность гимантана в сочетании с доксициклином ослаблять двигательные нарушения, наблюдающиеся на 2-е и 8-е сутки эксперимента, можно рассматривать как проявление умеренного протекторного потенциала по отношению к токсическому действию МФТР.

ВЫВОДЫ

1. Введение дофаминового токсина МФТР приводит к снижению двигательной активности мышей C57BL, не восстанавливаемое предварительным однократным введением антибиотика доксициклина или нового противопаркинсонического средства гимантана.

Влияние МФТР или МФТР в комбинации с доксициклином и(или) гимантаном на показатели исследовательского поведения в закрытом крестообразном лабиринте у самцов мышей линии C57BL

Показатель	Время до теста, дни	Плацебо	МФТР (4 × 20 мг/кг внутривенно)	МФТР + доксициклин (100 мг/кг внутрь)	МФТР + гимантан (10 мг/кг внутрь)	МФТР + доксициклин (100 мг/кг внутрь) + гимантан (10 мг/кг внутрь)
Число животных		12	10	11	11	11
Число заходов в рукава при 1-м патрулировании лабиринта	1	5,9 ± 0,5	5,8 ± 0,5	6,1 ± 0,5	5,4 ± 0,3	6,0 ± 0,6
	7	5,4 ± 0,2	5,4 ± 0,3	5,4 ± 0,3	5,5 ± 0,3	5,8 ± 0,5
Латентный период 1-го захода в рукав лабиринта, с	1	12,4 ± 2,3*	23,8 ± 4,7	26,6 ± 3,7	25,7 ± 5,2	26,7 ± 5,0
	7	9,2 ± 1,2	6,6 ± 0,8	9,8 ± 0,8	7,2 ± 1,0	10,1 ± 2,3
Общее время в центральном отсеке, с	1	54,6 ± 5,6***	124,9 ± 12,9	118,8 ± 11,5	150,6 ± 48,2	68,2 ± 5,5***
	7	58,8 ± 8,5	62,7 ± 6,9	69,7 ± 8,7	72,1 ± 13,1	69,2 ± 14,3
Общее время в рукавах, с	1	124,8 ± 13,7**	307,4 ± 49,7	284,7 ± 28,1	307,6 ± 32,3	282,5 ± 29,0
	7	92,1 ± 7,7**	121,8 ± 5,3	121,6 ± 9,0	126,8 ± 6,4	93,0 ± 11,0*

*, **, *** — статистически значимая разница по сравнению с группой, получавшей МФТР (t-критерий) при $p < 0,05$, $p < 0,02$, $p < 0,01$.

2. Совместное введение доксициклина и гимантана противодействует развитию токсического эффекта МПТР, что свидетельствует о синергичности противовоспалительного и дофамин-позитивного эффектов препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Майский, Р. М. Салимов, *Методические указания по изучению препаратов для лечения алкоголизма. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), Медицина, Москва (2005), 342 – 356.
2. Е. А. Катунина, А. В. Петрухова, Г. Н. Авакян, *Журн. неврол. психиатр. им С. С. Корсакова*, **108**(6), 24 – 27 (2008).
3. Р. М. Салимов, *Журн. высш. нервн. деят.*, **38**(3), 569 – 571 (1988).
4. Л. Н. Неробкова, Е. А. Вальдман, Т. А. Воронина и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **63**(3), 3 – 6 (2000).
5. L. F. Bastos, L. A. Merlo, L. T. Rocha, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **576**(1 – 3), 171 – 179 (2007).
6. E. Diguët, C. E. Gross, E. Bezaud, et al., *Neurology*, **62**(1), 158 – 159 (2004).
7. *Drug discovery and evaluation: pharmacological assays*. Vogel H. G. (ed.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (2002), 579.
8. A. M. Landau, K. C. Luk, M. L. Jones, et al., *J. Exp. Med.*, **202**(5), 575 – 581 (2005).
9. P. L. McGeer, E. G. McGeer, *Movement Disorders*, **23**(4), 474 – 483 (2008).
10. K. Pothakos, M. J. Kurz, Y. S. Lau, *BMC Neurosci.*, **10**, 6 (2009).
11. S. Przedborski, *Movement Disorders*, **25**, S55 – S57 (2010).
12. R. M. Salimov, W. J. McBride, J. D. Sinclair, et al., *Addict. Biol.*, **1**, 273 – 280 (1996).
13. P. A. Serra, L. Sciola, M. R. Delogu, et al., *J. Biol. Chem.*, **277**(37), 34451 – 3446 (2002).
14. X. Shan, L. Chi, M. Bishop, et al., *Stem Cells*, **24**(5), 1280 – 1287 (2006).
15. M. Thomas, W. D. Le, *Curr Pharm Des.*, **10**(6), 679 – 686 (2004).
16. Z. Xu, D. Cawthon, K. A. McCastlane, et al., *Synapse*, **55**, 45 – 51 (2005).
17. L. Yang, Sh. Sugama, J. W. Chirichigno, et al., *J. Neurosci Res.*, **74**, 278 – 285 (2003).
18. J. Yrjanheikki, T. Tikka, R. Keinänen, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**(96), 13496 – 13500 (1999).
19. M. Zhao, S. Momma, K. Delfani, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**(13), 7925 – 7930 (2003).

Поступила 08.10.10

INFLUENCE OF HEMANTANE AND DOXYCYCLINE ON MPTP-EVOKED BEHAVIOR VIOLATIONS IN C57BL/6 MICE

G. I. Kovalev and R. M. Salimov

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, 125315, Moscow, Russia

The effects of anti-parkinsonian drug hemantane [(2-adamantyl)hexamethylenimine] (10 mg/kg, p. o.) and/or antibiotic drug doxycycline (100 mg/kg, p. o.), as well as that of neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (MPTP) (4 × 20 mg/kg, i. p.) were studied in elevated plus maze test on C57BL/6 mice. On second day after injection, MPTP decreased the locomot or activity in comparison to saline. Acute administration of hemantane or doxycycline failed to influence locomotion in mice, while their combination normalized motor activity. The results obtained confirm the role of inflammatory processes in parkinsonism and suggest expediency of combined pharmacotherapy of neurodegenerative diseases.

Key words: Hemantane, doxycycline, MPTP, C57BL/6 mice, locomotor activity, parkinsonism