

О ВЛИЯНИИ ГИМАНТАНА И АМАНТАДИНА НА РАЗВИТИЕ ЛЕВОДОПА-ИНДУЦИРОВАННЫХ ДИСКИНЕЗИЙ НА МОДЕЛИ ПАРКИНСОНИЧЕСКОГО СИНДРОМА У КРЫС

И. Г. Кáпица, Е. А. Иванова, А. В. Непоклонов, И. И. Кокшенев,
Т. А. Воронина, Е. А. Вальдман¹

Хроническое введение леводопы (10 мг/кг) и бенсеразида (15 мг/кг) вызывает развитие дискинезий у крыс с паркинсоническим синдромом, вызванным односторонним введением 6-гидроксидофамина в черную субстанцию. Совместное хроническое введение леводопы и бенсеразида с амантадином (20 мг/кг) значительно увеличивает скорость развития и выраженность дискинезий. Хроническое введение комбинации леводопы и бенсеразида с гимантаном (10 мг/кг) снижает скорость развития и выраженность индуцированных леводопой дискинезий по большинству регистрируемых параметров — аномальным движениям конечностей, жевательному и вращательному компонентам.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, гимантан, амантадин, леводопа, дискинезии

ВВЕДЕНИЕ

Дискинезии — непроизвольные неконтролируемые движения — осложнение терапии леводопой, наблюдаются у большинства пациентов с болезнью Паркинсона, значительно снижают повседневную активность больных и являются препятствием к продолжению приема препарата.

Дискинезии рассматриваются как процесс, развивающийся в ответ на высокие, превышающие физиологические, концентрации дофамина и отражающий нарушение синаптической пластичности. Тяжесть и скорость развития дискинезий тем выше, чем более выражена дегенерация дофаминергических нейронов [5, 13]. Различные механизмы регуляции рецепторов (дофамина, глутамата, серотонина, аденозина, ацетилхолина, опиоидных), участвующих в функционировании базальных ганглиев, пострецепторные сигнальные системы, механизмы, обеспечивающие нейропротекцию, рассматриваются как возможные мишени для антидискинетических средств [10, 15]. В клинической практике для коррекции уже развившихся дискинезий, особенно дискинезий пика дозы, наиболее широко используется амантадин [12]. Для снижения риска развития дискинезий дозу леводопы снижают, при этом с целью сохранения терапевтического эффекта дополнительно назначают агонисты дофаминовых рецепторов. Вместе с тем в ряде исследований показано, что комбинация агонистов дофаминовых рецепторов с леводопой может приводить к ускорению развития дискинезий [9].

Гимантан — новый противопаркинсонический препарат, производное 2-аминоадамантина, обладает сходными с амантадином свойствами неконкурентно-

го низкоаффинного блокатора ионного канала NMDA-рецепторов [3], но, наряду с этим, имеет ряд других компонентов в механизме действия и спектре фармакологической активности, что, возможно, обеспечивает препарату более высокую специфическую активность, установленную в эксперименте [1, 2, 4].

В клиническом исследовании показана эффективность и безопасность монотерапии начальных стадий болезни Паркинсона гимантаном в дозе 25 мг в сутки [6]. Применение гимантана на более поздних стадиях заболевания наиболее целесообразно в составе комплексной терапии, в частности, в сочетании с леводопой, что обуславливает необходимость экспериментального изучения такой комбинации. Целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка влияния гимантана и амантадина на скорость развития и тяжесть дискинезий при хроническом введении совместно с леводопой крысам с паркинсоническим синдромом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на белых аутбредных самцах крыс массой 250 – 300 г, полученных из питомника Столбовая (РАМН). Для наркоза использовали этиминал-натрий (45 мг/кг, внутривенно). Паркинсонический синдром моделировали введением 6-гидроксидофамина (6-ГОДА) в левую черную субстанцию в виде раствора 2 мкг/мкл в 0,02 % растворе аскорбиновой кислоты объемом 4 мкл со скоростью 1 мкл/мин согласно координатам стереотаксического атласа для крыс $A = + 3,7$, $L = + 2,0$, $P = - 8$. Иглу вынимали через 3 мин после введения 6-ГОДА. Для получения селективного действия 6-ГОДА в отношении дофаминовых нейронов за 15 мин до операции животным вводили ингибитор транспортера норадреналина — дезипрамин (15 мг/кг внутривенно).

¹ Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

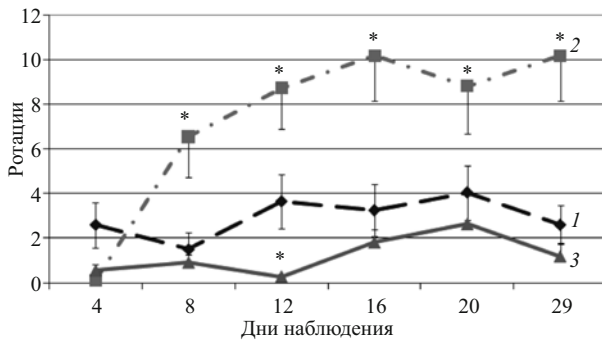


Рис. 1. Влияние гимантана и амантадина при совместном введении с леводопой на развитие аномальных двигательных реакций у крыс с паркинсоническим синдромом.

Здесь и на рис. 2: по оси абсцисс — дни наблюдения, по оси ординат — виды аномальных двигательных реакций. * — $p < 0,05$ по сравнению с группой “леводопы + бенсеразид”.

1 — леводопы, 10 мг/кг + бенсеразид, 15 мг/кг; 2 — амантадин, 20 мг/кг; 3 — гимантан, 10 мг/кг.

Через 3 недели после введения 6-ГОДА животных разделили на три группы. Всем трем группам ежедневно внутривенно вводили леводопу в дозе 10 мг/кг совместно с ингибитором периферической ДОФА-декарбоксилазы бенсеразидом (15 мг/кг, “Sigma”). Выбранная доза леводопы наиболее часто используется для моделирования дискинезий у крыс [13]. Животным группы 2 ($n = 12$) одновременно с леводопой вводили амантадин ПК-Мерц, 20 мг/кг, группы 3 ($n = 12$) — гимантан (10 мг/кг). Амантадин и гимантан вводили внутривенно в минимальных дозах, в которых была установлена их активность на модели паркинсонического синдрома [2]. Препараты вводили ежедневно в течение 29 дней. Тестирование проводили 7 раз в течение эксперимента. В день тестирования двигательные нарушения оценивали 4 раза после введения препаратов каждые 35 мин на протяжении 140 мин. Регистрировали 4 типа произвольных аномальных движений в соответствии с валидизированной для крыс шкалой [13]: аксиальная дистония, контралатеральные по отношению к стороне повреждения скручивания шеи и передней части туловища; жевательная дискинезия, стереотипные движения челюстей и контралатеральные протрузии языка; дискинезия конечностей, повторяющиеся ритмические подергивания и дистонические положения контралатеральной передней конечности и/или загибающие движения задних конечностей; ротации, вращательные движения в сторону, противоположную стороне повреждения. Тяжесть нарушений выражали в баллах: 1 балл — эпизодические, 2 — частые, 3 — продолжительные, но прерывающиеся при сенсорном раздражении (в качестве раздражителя применяли шумовое раздражение в виде постукивания по клетке), 4 — постоянные, не прерывающиеся при сенсорном стимулировании движения. Кроме того, вычисляли суммарный индекс произвольных аномальных движений путем

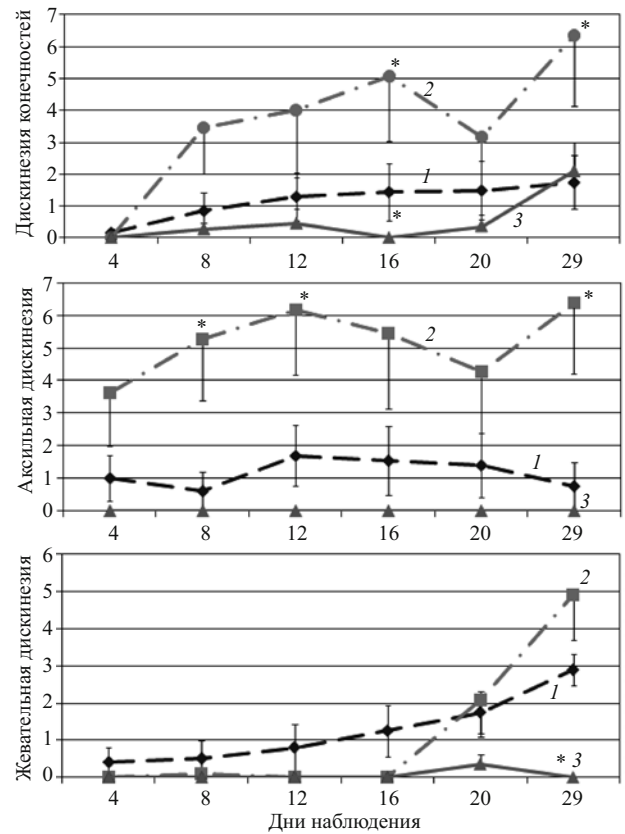


Рис. 2. Влияние гимантана и амантадина при совместном введении с леводопой на развитие аномальных ротаций у крыс с паркинсоническим синдромом.

Обозначения те же, что на рис. 1.

сложения отмеченных аксиальных дистоний, дискинезий конечностей и жевательных дискинезий.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета программ Statistica v. 6.0. Различия между группами оценивали непараметрическим тестом Манна-Уитни и Вилкоксона для парных групп. Для оценки временных различий повторных измерений использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение леводопы крысам с паркинсоническим синдромом приводило к развитию дискинезий, начальные проявления которых регистрировались, начиная с первой недели применения препарата, и достигали максимума к третьей неделе. Количество животных с дискинезиями было максимальным в группе, получавшей совместно леводопу и амантадин — 78 % к 20-му и 90 % к 29-му дню, и минимальным при комбинировании леводопы с гимантаном — 27 % и 36 %, соответственно. Процент животных, у которых развились дискинезии к 20-му дню в группе, получавшей только леводопу, составил 40 %, а к 29-му дню ежедневного введения — 80 %. Наиболее выраженными

оказались аксиальный и ротационный компоненты дискинезий (рис. 1, 2).

При совместном применении леводопы с амантадином значительно увеличилась скорость развития и тяжесть дискинезий по сравнению с группой животных, получавших только леводопу. Достоверные более высокие значения показателей аксиальных и ротационных дискинезий зарегистрированы уже на 8-й день тестирования. Количество ротаций было достоверно выше во все дни тестирования. Дискинезии конечностей оказались достоверно более выражены на 16-й и 29-й день по сравнению с животными, которым вводили только леводопу. Жевательные аномальные движения начали развиваться только с 16-го дня, достоверных отличий от эффекта леводопы не установлено.

При совместном применении гимантана с леводопой первые признаки вращательных дискинезий отмечались к концу первой недели, жевательные дискинезии и дискинезии конечностей — только к 20-му дню, а аксиальные дискинезии не появились вовсе. Во все дни наблюдения у животных, получавших гимантан совместно с леводопой, регистрировали минимальные показатели аномальных движений, хотя достоверность различий с группой, получавшей только леводопу, установлена лишь по ротациям — на 12-й день, дискинезиям конечностей — на 16-й день и жевательным — на 29-й день наблюдения.

Некоторые исследователи рассматривают усиление контралатеральных вращений отдельно от других компонентов дискинезий, индуцированных леводопой, особенно при оценке активности соединений с дофаминергической активностью [14]. С учетом этого суммарный индекс аномальных движений был рассчитан по трем характеристикам, не включая ротации. В группе животных, которым вводили амантадин совместно с леводопой, более высокий суммарный показатель дискинезий оказался во все дни наблюдения, статистическая достоверность отличий установлена на 8-й и 36-й день. Суммарный индекс дискинезий в группе, которой вводили комбинацию леводопы с гимантаном, был значительно ниже во все дни наблюдения, однако достоверность отличий не установлена.

Полученные нами результаты подтвердили различия в спектре фармакологической активности и, очевидно, в механизмах действия амантадина и гимантана.

Амантадин признается одним из наиболее эффективных препаратов для снижения тяжести уже развившихся индуцированных леводопой аномальных движений. Эти свойства связывают преимущественно с его способностью блокировать ионный канал NMDA-рецепторов, поскольку известно участие в механизме реализации дискинезий избыточной глутаматергической активности в базальных ганглиях. Используемая нами модель воспроизводит индуцированные леводопой дискинезии пика дозы, развивающиеся при значительном увеличении уровня синаптического дофамина и рецепторной стимуляции. Известно, что

амантадин оказывает также дофаминопозитивный эффект, реализующийся как на пресинаптическом уровне за счет усиления высвобождения и ингибирования захвата дофамина, так и на уровне дофаминовых рецепторов. Выраженный дофаминергический компонент в механизме действия амантадина может объяснить увеличение скорости развития и тяжести дискинезий у крыс, что согласуется с клиническими данными, указывающими на усиление как основного противопаркинсонического, так и побочных эффектов леводопы, включая дискинезии, развивающиеся при совместном применении с агонистами дофаминовых рецепторов, в частности, прамипексолом [8].

Гимантан имеет сходные с амантадином свойства блокатора глутаматных NMDA-рецепторов [3]. Гимантан проявляет и дофаминопозитивное действие; при моделировании дефицита дофамина активность его превышала таковую амантадина [2]. При этом в нашем эксперименте гимантан ни только не увеличивал дискинезии, но и снижал их по некоторым показателям.

Индуцированные леводопой дискинезии пика дозы развиваются в условиях значительного снижения количества дофаминовых рецепторов, гиперчувствительности сохранившихся рецепторов преимущественно D₁ и D₂ подтипа и нарушения механизма обратного захвата [8]. Нарушение процесса оборота дофамина ведет к его образованию и высвобождению из серотонинергических нейронов, не имеющих механизма обратной регуляции для дофамина. Такое нефизиологическое повышение уровня дофамина приводит к пульсативной стимуляции рецепторов, обуславливающей развитие дискинезий. Этим объясняется эффективность агонистов серотониновых 5HT_{1A} и 5HT_{1B} рецепторов для предупреждения развития дискинезий при совместном применении с леводопой [11].

Гимантан имеет средство к дофаминовым рецепторам D₃ подтипа. Субхроническое введение гимантана повышает плотность пресинаптических транспортеров дофамина [1], увеличивает количество 5HT₁ рецепторов в стриатуме как в норме, так и на модели паркинсонического синдрома [4]. Эти особенности нейрохимического спектра могут обеспечивать установленные защитные свойства гимантана при моделировании дискинезий. Развитие дискинезий, индуцированных леводопой, является процессом, отражающим нарушение синаптической пластичности; тяжесть и скорость их развития тем выше, чем более выражен процесс дегенерации дофаминергических нейронов [13]. Возможно, что нейропротекторный эффект гимантана, с учетом ранее установленных в его механизме действия антирадикальной активности и свойств ингибитора MAO-B, оказался более выраженным, чем у амантадина, и обусловил замедление прогрессирующей после введения 6-ГОДА дегенерации дофаминовых нейронов.

Таким образом, установленные различия во влиянии амантадина и гимантана на скорость развития и

тяжесть леводопа-индуцированных дискинезий могут быть связаны с различиями в спектре их нейрохимической активности и должны учитываться при клиническом применении.

ВЫВОДЫ

1. У крыс с паркинсоническим синдромом, вызванным односторонним введением 6-ГОДА в черную субстанцию, хроническое введение леводопы и бенсеразида вызывает развитие дискинезий.

2. Совместное хроническое введение леводопы и бенсеразида с амантадином увеличивает скорость развития и тяжесть дискинезий, индуцированных леводопой.

3. Совместное хроническое введение леводопы и бенсеразида с гимантаном снижает скорость развития и выраженность индуцированных леводопой дискинезий по большинству регистрируемых параметров — аномальным движениям конечностей, жевательному и вращательному компоненту.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. А. Абаймов, Г. И. Ковалев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **70**(4), 11 – 14 (2007).
2. Е. А. Вальдман, *Автореф. дисс. д-ра мед. наук*, Москва (2001).
3. М. В. Елшанская., А. И. Соболевский, Е. А. Вальдман, Б. И. Ходоров, *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(1), 18 – 21 (2001).
4. И. А. Зимин, И. Г. Капица, Т. А. Воронина, Г. И. Ковалев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **73**(11), 2 – 5 (2010).
5. С. Н. Иллариошкин, Н. В. Федорова, *Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. С. Н. Иллариошкин, Н. Н. Яхно (ред.)*, НЦ по неврологии РАМН, Москва (2008), сс. 154 – 159.
6. Е. А. Катунина, А. В. Петрухова, Г. Н. Авакян, и др., *Журн. неврол. и психиатр. имени С. С. Корсакова*, **108**(6), 24 – 27 (2008).
7. Л. Н. Неробкова, Е. А. Вальдман, Т. А. Воронина, и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **63**(3), 3 – 6 (2000).
8. A. Berthet, G. Porras, E. Doudnikoff, et al., *The Journal of Neuroscience*, **29**(15), 4829 – 4835 (2009).
9. M. A. Brodsky, B. S. Park, J. G. Nutt, *Arch. Neurol.*, **67**(1), 27 – 32 (2010).
10. J. M. Brotchie, *Mov. Disord.*, **20**(8), 919 – 931 (2005).
11. M. Carta, T. Carlsson, D. Kirik, A. Bjorklund, *Brain*, **130**, 1819 – 1833 (2007).
12. P. Del Dotto, N. Pavese, G. Gambaccini, et al., *Movement Disorders*, **16**(3), 515 – 520 (2001).
13. C. S. Lee, A. Cenci, M. Schulzer, A. Bjorklund, *Brain*, **123**, 1365 – 1379 (2000).
14. Lundblad M., Andersson M., Winkler C., et al., *Eur. J. Neurosci*, **15**, 120 – 132 (2002).
15. D. Rylander, A. Recchia, F. Mela, et al., *The Journal of Pharmacology and experimental therapeutics*, **330**(1), 227 – 235 (2009).

Поступила 19.04.11

COMPARATIVE STUDY OF AMANTADINE AND HEMANTANE EFFECTS ON DEVELOPMENT OF LEVODOPA-INDUCED DYSKINESIA IN RAT MODEL OF PARKINSONIAN SYNDROME

I. G. Kapitsa, E. A. Ivanova, A. V. Nepoklonov, I. I. Kokshenev, T. A. Voronina, and E. A. Val'dman

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

Chronic administration of levodopa and benserazide (10 and 15 mg/kg, respectively) cause the development of dyskinesia in rats with model parkinsonian syndrome induced by injection of 6-hydroxydopamine in left substantia nigra. The chronic administration of these drugs together with amantadine (20 mg/kg) accelerates the onset of latency and increases the magnitude of dyskinesia. Chronic administration of levodopa and benserazide together with hemantane (10 mg/kg) slows down the development and decreases the magnitude of levodopa-induced abnormal involuntary movements as measured for limb, orolingual and rotatory movements.

Key words: Parkinson's disease, hemantane, amantadine, levodopa, dyskinesia