

## ОЦЕНКА ЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА НОВОГО ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВОПАРКИНСОНИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ГИМАНТАНА ОТ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МФТП

Е. А. Вальдман, Л. Н. Неробкова, Т. А. Воронина<sup>1</sup>

Гимантан — N-(2-адамантил) гексаметиленмина — новый оригинальный потенциальный противопаркинсонический препарат, обладающий комплексным механизмом действия. Гимантан является низкоафинным блокатором ионных каналов NMDA рецепторов, повышает содержание внеклеточного дофамина в стриатуме, ингибирует MAO-B, что позволяет предположить наличие у него нейропротекторной активности. В представленном исследовании изучена способность гимантана при предварительном однократном или повторном введении предотвращать развитие эффектов нейротоксина МФТП на двигательную активность мышей и биоэлектрическую активность головного мозга крыс. Показано, что гимантан при предварительном однократном и в большей степени повторном (5 дней) введении внутрь в дозе 10 мг/кг значительно снижает выраженность олигокинезии, вызываемой МФТП, у мышей линии C57BL/6. Гимантан при предварительном однократном и 7-дневном введении в той же дозе предотвращал развитие характерных для экспериментального паркинсонизма нарушенный биоэлектрической активности головного мозга у крыс. Статистический анализ ЭЭГ крыс после системного введения МФТП (30 мг/кг) на фоне гимантана показал практическое отсутствие достоверных различий с фоновыми показателями. Полученные результаты подтверждают наличие у гимантана способности защищать от токсических эффектов МФТП.

**Ключевые слова:** гимантан, паркинсонизм, МФТП, ЭЭГ

### ВВЕДЕНИЕ

В НИИ фармакологии РАМН синтезирован, изучен и охарактеризован как потенциальный противопаркинсонический препарат, обладающий комплексным механизмом действия, — гимантан — N-(2-адамантил) гексаметиленмина [1, 4].

Высокая активность гимантана доказана на модели паркинсонического синдрома, вызванного нейротоксином 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином (МФТП). Гимантан достоверно снижает выраженность основных проявлений экспериментального паркинсонического синдрома — олигокинезии, ригидности и тремора, а также нормализует электрическую активность структур головного мозга [5]. Установленные компоненты механизма действия гимантана, который обладает свойствами низкоаффинного неконкурентного блокатора ионных каналов глутаматных рецепторов NMDA подтипа [3] и ингибитора MAO-B [2], позволяют предполагать наличие нейропротекторного эффекта у этого соединения.

В настоящем исследовании изучалась способность гимантана при предварительном однократном или повторном введении предотвращать действие нейротоксина МФТП на двигательную активность мышей и биоэлектрическую активность головного мозга крыс.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на мышцах-самцах линии C57BL/6. Гимантан вводили внутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг в течение 4 дней. На 5-й день эксперимента через 30 мин после инъекции гимантана животным вводили нейротоксин МФТП (синтезирован ГУ НИИ фармакологии РАМН Л. М. Шарковой) в дозе 30 мг/кг внутрибрюшинно. Выраженность олигокинезии оценивалась через 1,5 ч после введения МФТП в актометре “Optovarimex”. В качестве контрольных использовали 3 группы животных, которым вводили в течение 5 дней физиологический раствор, а на 5-й день — МФТП однократно; физиологический раствор или гимантан в течение 5 дней.

Эксперименты по оценке биоэлектрической активности структур головного мозга проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 220–600 г с хронически вживленными электродами. Операции по хроническому вживлению электродов в мозг крысы проводили, как описано ранее [4]. Регистрацию биоэлектрической активности исследуемых структур мозга осуществляли в условиях свободного передвижения животного путем монополярного отведения с использованием электроэнцефалографа или биоусилителя с одновременным применением компьютерной записи (проводили непрерывную запись в течение 5 ч) и специальных программ для обработки ЭЭГ (BRAINSYS).

<sup>1</sup> Лаборатория психофармакологии (зав. — проф. Т. А. Воронина) ГУ НИИ им. В. В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В экспериментах по оценке двигательной активности у мышей показано наличие очень слабой собственной активирующей активности у гимантана. При повторном введении гимантана в дозе 10 мг/кг отмечалась тенденция к увеличению двигательной активности мышей по сравнению с контрольной группой, средняя двигательная активность составила  $1031,3 \pm 111,9$  и  $1274,4 \pm 75,9$  ед. соответственно, однако различия оказались не достоверными. МФТП через 1,5 ч после введения вызывал достоверное ( $p < 0,01$ ) снижение двигательной активности у животных, которым предварительно вводили физиологический раствор, по сравнению с интактными животными. В группе крыс, которым предварительно вводили гимантан, после введения МФТП также развивалась олигокинезия, но значительно менее выраженная. Двигательная активность животных в этой группе была достоверно (при  $p < 0,01$ ) выше, чем у контрольной (МФТП) группы, и составила  $530,8 \pm 45,6$  и  $228,6 \pm 68,8$  ед. соответственно.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о наличии у гимантана способности предотвращать развитие вызываемого

МФТП паркинсонического синдрома, по крайней мере, снижать выраженность его основного проявления у мышей C57BL/6 — олигокинезии.

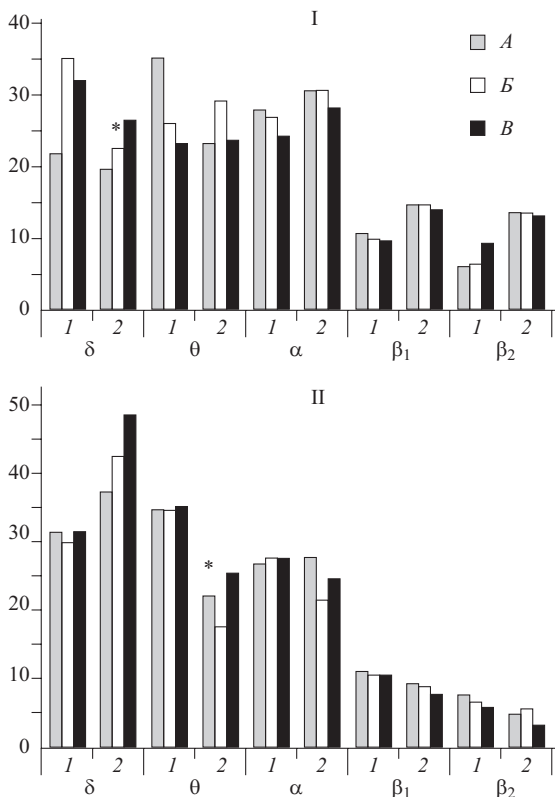
Паркинсонический синдром помимо характерных двигательных нарушений характеризуется определенными изменениями ЭЭГ активности. В качестве наиболее характерной особенности ЭЭГ рассматривается усиление медленной активности [10]. Подобные нарушения описаны и у животных с экспериментальным МФТП-вызванным паркинсоническим синдромом. ЭЭГ коррелятами паркинсонического синдрома, вызванного МФТП у крыс, является появление пароксизмальных разрядов быстрых и медленных волн, вспышки веретен, значительное повышение мощности ЭЭГ в диапазоне медленных волн в сенсомоторной коре, черной субстанции. Особенно выраженная устойчивая пароксизмальная активность наблюдается в хвостатом ядре [5].

Поэтому следующим этапом исследований стала оценка возможного защитного эффекта гимантана в отношении биоэлектрической активности головного мозга крыс, нарушаемой введением нейротоксина МФТП.

Регистрация ЭЭГ начиналась после однократного и субхронического (7 дней) введения гимантана внутрь в дозе 10 мг/кг. МФТП вводили через 30 мин после последнего введения гимантана. Используемая схема позволила оценить влияние гимантана на фоновую ЭЭГ и на все стадии развития паркинсонического синдрома, вызываемого нейротоксином.

Гимантан при однократном введении интактным животным в дозе 10 мг/кг вызывал снижение амплитуды биоэлектрической активности в электрограммах всех исследуемых структур и уменьшение числа медленных волн. Статистическая обработка и сравнение разностных спектров мощности по группам показала, что через 30 мин после введения гимантана наиболее заметно снижалась мощность спектра в диапазоне частот 3–4 Гц, но эти изменения достигали уровня достоверности (при  $p < 0,05$ ) лишь в спектрограммах сенсомоторной коры.

Через 1,5 ч после введения МФТП у контрольных крыс, которым не вводили предварительно гимантан, развивались основные симптомы паркинсонического синдрома — олигокинезия, тремор и ригидность. В этот период на ЭЭГ во всех исследуемых структурах наблюдалось усиление диффузной медленной активности, регистрировались пароксизмальные разряды быстрых и медленных волн. При сравнительном анализе среднего спектра мощности фоновой ЭЭГ и через 1,5 ч после введения МФТП установлено, что введение МФТП приводит к достоверному повышению мощности ЭЭГ в диапазоне медленных волн (1–4 Гц) в изученных структурах — хвостатом ядре, бледном шаре и сенсомоторной коре, и к некоторому снижению мощности спектра в других диапазонах, не достигающему достоверных отличий от контроля.



Мощность спектра биоэлектрической активности структур головного мозга крыс.

*A* — хвостатое ядро, *B* — сенсомоторная кора, *B* — бледный шар, *I* — фоновая активность, *2* — через 2 ч после введения МФТП (30 мг/кг) на фоне предварительного однократного (*I*) и 7-дневного (*II*) введения гимантана в дозе 10 мг/кг. \* —  $p < 0,05$ , достоверность различий по Стьюденту.

При введении МФТП на фоне гимантана в этот же период, через 1,5 ч после инъекции МФТП, поведенческие нарушения проявлялись значительно слабее. Это сочеталось с менее выраженными изменениями ЭЭГ. Пароксизмы быстрых и медленных волн практически отсутствовали. Статистический анализ ЭЭГ по группам показал, что мощность спектра медленных частот даже снизилась по сравнению с фоновой записью, при этом в электрокортикограммах эти различия достигали уровня достоверности (рисунок, I).

Таким образом, сопоставление динамики ЭЭГ изменений и двигательных расстройств, вызванных введением МФТП, выявило способность гимантана при однократном введении в дозе 10 мг/кг за 30 мин до системного введения МФТП снижать выраженность поведенческих эффектов нейротоксина и нормализовать электрическую активность головного мозга крыс.

Анализ ЭЭГ крыс после 7-дневного введения гимантана в дозе 10 мг/кг показал, что по сравнению с исходной фоновой активностью в электрограммах всех исследуемых структур мозга отмечается заметное уменьшение диффузной медленной активности в диапазоне 3–4 кол./с и незначительное усиление  $\theta$ -активности в диапазоне 7–8 кол./с. Отмечается снижение амплитуды биоэлектрической активности. Биоэлектрическая активность становится более синхронизированной по сравнению с таковой после однократного введения гимантана.

На фоне предварительного 7-дневного введения гимантана системное однократное введение МФТП в дозе 30 мг/кг вызывало значительно менее выраженные изменения электрической активности, чем наблюдаемые при введении интактным животным. Мощность спектра электрической активности в диапазоне  $\delta$ -частот увеличивалась по сравнению с фоновой ЭЭГ во всех исследованных структурах, однако статистически значимых различий не установлено. Напротив, мощность спектра в диапазоне  $\theta$ -частот уменьшалась. При этом в спектрограммах сенсомоторной коры и хвостатого ядра эти различия достигали уровня достоверности при  $p < 0,05$ . Мощность спектра в диапазоне быстрых частот в сенсомоторной коре, бледном шаре и хвостатом ядре имела тенденцию к увеличению (данные получены при усреднении спектров мощности ЭЭГ по группе из 6 крыс), однако различия были недостоверными (рисунок, II).

Таким образом, предварительное введение гимантана предотвращает развитие как поведенческих, так и ЭЭГ проявлений МФТП-вызванного паркинсонического синдрома, что выражается в отсутствии достоверных изменений спектра мощности ЭЭГ  $\delta$ - и  $\theta$ -активности по сравнению с интактными животными. Эти данные согласуются с результатами ЭЭГ исследований больных паркинсонизмом, у которых в клинической картине преобладала олигокинезия, а основным проявлением нарушений биоэлектрической активнос-

сти было общее замедление ритмов и наличие диффузной медленной активности в диапазоне  $\delta$  и  $\theta$  [10].

Показателем эффективности противопаркинсонической терапии в клинике является снижение выраженности медленноволновой активности [6], в частности показанное для леводопа [7].

Установленная защитная активность гимантана может быть обусловлена установленными компонентами механизма его действия. Доказанное угнетение активности MAO-B [2] может приводить к замедлению метаболизма МФТП и образования токсического продукта МФТП<sup>+</sup>. Кроме того, гимантан обладает свойствами неконкурентного блокатора ионных каналов NMDA рецепторов [3]. Защитное действие антагонистов глутаматных рецепторов от эффектов МФТП продемонстрировано у приматов и у мышей [8, 9, 11], что позволяет предполагать вовлеченность NMDA-зависимых процессов в реализацию токсических эффектов МФТП.

Установленные свойства гимантана свидетельствуют в пользу наличия у него некоторой нейропротекторной активности.

## ВЫВОДЫ

1. Гимантан при предварительном повторном введении в дозе 10 мг/кг достоверно снижает выраженность МФТП-вызванной олигокинезии у мышей линии C57BL/6.
2. Гимантан при предварительном однократном и в большей степени субхроническом пероральном введении в дозе 10 мг/кг значительно снижает поведенческие и ЭЭГ проявления МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома у крыс.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ, грант № 01-04-49819, № 03-04-49228 и Регионального общественного фонда содействия отечественной медицине.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. А. Вальдман, Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 4, 3–6 (1999).
2. Е. А. Вальдман, Т. А. Воронина, Л. Н. Аксенова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, № 5, 3–5 (2003).
3. М. В. Елшанская, А. И. Соболевский, Е. А. Вальдман, Б. И. Ходоров, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 1, 18–21 (2001).
4. И. С. Морозов, Е. А. Вальдман, Т. А. Воронина, *Хим.-фарм. ж.*, № 4, 27–30 (2000).
5. Л. Н. Неробкова, Е. А. Вальдман, Т. А. Воронина, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 3, 3–6 (2000).
6. P. Brown and C. D. Marsden, *Mov. Disord.*, **14**(3), 423–429 (1999).
7. J. N. Caviness, K. Gwinn-Hardy, C. H. Adler, and M. D. Muenster, *Mov. Disord.*, **15**(1), 140–145 (2000).
8. K. W. Lange, P. A. Loschmann, E. Sofic, et al., *Naumyn-Schmidberg's Arch. Pharmacol.*, **348**, 586–592 (1993).

9. P. A. Loschmann, M. Kunow, H. Watchtel, and L. Turski, *J. Neural. Transm.*, **43**(suppl.), 133 – 143 (1994).
10. M. J. Neufeld, R. Inzelberg, and A. D. Korczyn, *Acta. Neurol. Scand.*, **78**(1), 1 – 5 (1988).
11. A. Zuddas, G. Oberto, F. Vaglini, et al., *J. Neurochem.*, **59**, 733 – 739 (1992).

Поступила 03.10.02

## EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF THE NEW ANTIPARKINSONIAN DRUG HEMANTANE AGAINST MPTP NEUROTOXICITY

E. A. Val'dman, L. N. Nerobkova, and T. A. Voronina

Laboratory of Psychopharmacology, Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

N-(Adamant-2-yl)hexamethyleneimine hydrochloride (hemantane) is a new potential antiparkinsonian drug with a complex mechanism of action. The drug exhibits the properties of a low-affinity blocker of the ion channels of NMDA receptors, increases the dopamine content in striatum, and inhibits monoamine oxidases (MAO-B). This combination of properties suggests that hemantane can also possess neuroprotector properties. In this context, the ability of hemantane to prevent from the development of MPTP neurotoxin action on the locomotor activity in mice and the EEG activity in rats has been studied. Preliminary single (and the more so, repeated over a period of 5 days) peroral administration of hemantane in a dose of 10 mg/kg significantly reduced the manifestations of MPTP-induced oligokinesia in C57BL/6 mice. Acute or subchronic (7-day) pretreatment with hemantane prevented the development of EEG changes typical of parkinsonism. The results of statistical EEG data processing showed that a systemic introduction of MPTP (30 mg/kg) on the background of hemantane pretreatment produced no reliable changes against control characteristics. Thus, hemantane is capable of protecting experimental animals from MPTP neurotoxicity.