

intraperitoneal injections of 18 nm gold nanoparticles in hamsters. *Int J Nanomed.* 2016;11:2505-13.

22. Villiers C, Freitas H, Couderc R. Analysis of the toxicity of gold nanoparticles on the immune system: effect on dendritic cell functions. *Nanopart Res.* 2010;12(1):55-60.

23. Arnida, Malugin A, Ghandehari. Cellular uptake and toxicity of gold nanoparticles in prostate cancer cells: a comparative study of rods and spheres. *J Appl. Toxicol.* 2010;30(3):212-7.

24. Reznikov AG, Salivonyk OA, Sotkis AG. Assessment of gold nanoparticle effect on prostate cancer LNCaP cells. *Exp Oncol.* 2015;37(2):100-4.

25. Dykman LA, Khlebtsov NG. Gold Nanoparticles in Biology and Medicine: Recent Advances and Prospects. *Acta Naturae.* 2011;3(2):34-55.

26. Zhou W, Gao X, Liu D. Gold Nanoparticles for In Vitro Diagnostics. *Chem Rev.* 2015;115(16):10575-636.

27. Roiter Y, Ornatska M, Rammohan AR. Interaction of lipid membrane with nanostructured surfaces. *Langmuir.* 2009;25(11):6287-99.

28. Vandooren J, Berghmans N, Dillen C. Intradermal air pouch leukocytosis as an in vivo test for nanoparticles. *Int J Nanomed.* 2013;8(1):4745-56.

29. Li Y, Chen X, Gu N. Computational investigation of interaction between nanoparticles and membranes: hydrophobic/hydrophilic effect. *J Phys Chem B.* 2008;112(51):16647-53.

30. Boulaiz H, Alvarez PJ, Ramirez A. Nanomedicine: Application Areas and Development Prospects. *Int. J. Mol. Sci.* 2011;12(5):3303-21.

31. Giasuddin AM, Jhuma KA, Mujibul AM. Use of Gold Nanoparticles in Diagnostics, Surgery and Medicine: A Review. *Bangladesh J Med Biochem.* 2012;5(2):56-60.

32. Zakhidov ST. Effect of gold nanoparticles on mouse spermatogenesis. *Biologichnyy Bull.* 2012;39:229-36.

Стаття надійшла до редакції
19.07.2017



УДК 615:217:577.112.382:615-07:616.858:616.839.1

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2017.3.111857>

**В.Й. Мамчур,
Т.М. Криворучко,
О.В. Макаренко**

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ АНТИПАРКІНСОНІЧНОЇ ДІЇ ГЛІЦИНУ СУМІСНО З АМАНТАДИНОМ ЗА УМОВ ЗМІН НЕЙРОСИНАПТИЧНОЇ ПЕРЕДАЧІ

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра фармакології та клінічної фармакології
(в.о. зав. – к. мед. н., доц. С.М. Дронов)
вул. В. Вернадського, 9, Дніпро, 49044, Україна
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»
Department of pharmacology and pharmacology
V.Vernadsky str., 9, Dnipro, 49044, Ukraine
e-mail: olgamakarenko977@gmail.com*

Ключові слова: *паркінсонічний синдром, катаlepsія, тремор, гліцин, амантадин*
Key words: *Parkinson's syndrome, catalepsy, tremor, amantadine, glycine*

Реферат. Сравнительный анализ антипаркинсонического действия глицина совместно с амантадином в условиях изменений нейросинаптической передачи. Мамчур В.И., Криворучко Т.Н., Макаренко О.В. Болезнь Паркинсона (БП) традиционно рассматривают как заболевание, которое поражает моторную сферу у человека. Но, помимо двигательных проявлений, в клинической картине заболевания присутствуют и немоторные проявления, заболевания, среди которых чаще встречается деменция. Цель работы – экспериментальная оценка возможного антипаркинсонического действия глицина в условиях экспериментальных

эквивалентов паркинсонизма (акинетико-ригидная и треморная формы) на фоне антипаркинсонической коррекции амантадином. Методы исследования: модель катаlepsии (угнетение дофаминергической передачи, эквиваленты состояния гипокинезии и ригидности) и модель ареколинового тремора (активация ацетилхолинергической передачи, которая соответствует паркинсоническому тремору) на фоне введения амантадина (50 мг/кг), глицина (100 мг/кг и 200 мг/кг) и их совместного использования. Результатами исследования установлена позитивная динамика совместного использования амантадина совместно с глицином в дозе 100 мг/кг и 200 мг/кг, что определилось низким процентом животных с проявлениями катаlepsии (50-70%) с оценочным критерием в 0,5-1,8 балла при максимально возможных 6 баллах. Похожие результаты получены в условиях активации холинергической системы (ареколиновый тремор): глицин в дозе 100 мг/кг и 200 мг/кг способствовал оптимизации антитреморного действия амантадина, что зарегистрировалось в увеличенном латентном периоде тремора, уменьшении его длительности и ослаблении интенсивности почти в 2,1 раза в сравнении с показателями группы контроля. Таким образом, исследуемые комбинации амантадина совместно с глицином в дозе 100 мг/кг и 200 мг/кг являются перспективными в плане изучения влияния на дементивные нарушения в условиях паркинсонического синдрома с учетом базовой антипаркинсонической терапии амантадином, что и станет дальнейшим научным направлением работы.

Abstract. The comparative analysis of antiparkinsonian activity of glycine combined with amantadine in conditions of changing neurosynaptic transmission. Mamchur V.I., Kryvoruchko T.N., Makarenko O.V. Parkinson's disease is traditionally viewed as a disease which affects the human motor sphere. Besides motor manifestations in the clinical picture of the disease, non-motor manifestations with dementia as the most common are present. The purpose of the work – experimental evaluation of the possible antiparkinsonian action of glycine in terms of experimental models of Parkinson's disease equivalents (akinetic-rigid and tremor forms) on the background of antiparkinsonian correction by amantadine. Methods: catalepsy model (inhibition of dopaminergic transmission, equivalents of hypokinesia and rigidity states) and model of arekolin tremor (activation of cholinergic transmission that corresponds to parkinsonian tremor) on the background of amantadine administration (50 mg/kg), glycine (100 mg/kg and 200 mg/kg) and their combined introduction. The research results show a positive dynamic in combined using of amantadine with glycine at a dose of 100 mg/kg and 200 mg/kg, which was is determined by the low percentage of animals with symptoms of catalepsy (50-70%) with evaluation criteria of 0.5-1.8 points with maximum possible 6 points. Similar results were obtained in terms of activation of the cholinergic system (arekolin tremor). Glycine at a dose of 100 mg/kg and 200 mg/kg facilitated to optimization of antitremor action of amantadine, that is registered in increased latent period of tremor, reduction of its duration and intensity attenuation almost by 2.1 times in comparison with indicators of the control group. Thus, studied combinations of amantadine with glycine at a dose of 100 mg/kg and 200 mg/kg are promising in studying of their influence on dementia in Parkinson's syndrome, and this study will be continued.

Паркінсонізм – це нейродегенеративне захворювання, що супроводжується специфічними клінічними проявами рухових порушень (тремор, акінезія та виражена ригідність м'язів). У патогенезі хвороби Паркінсона (ХП) провідну роль відіграють порушення нейромедіаторних процесів у екстрапірамідній системі внаслідок прогресуючої дегенерації дофамінергічних нейронів [6]. Відомо, що компенсація загинлих нігтростріальних нейронів може здійснюватися за рахунок перебудови дофамінергічного метаболізму та посилення активності нейронів, що залишились, а також внаслідок стимуляції синтезу дофаміну [9]. Слід зазначити, що в арсеналі протипаркінсонічних препаратів заслуговує уваги амантадин (сімметрел, мідантан, ПК-Мерц), котрий сприяє вивільненню дофаміну з нейронів, що не зазнали впливу дегенеративного процесу дофамінергічних терміналів стріатуму [1]. Проте відомо, що окрім класичних рухових порушень, ХП проявляється широким спектром психічних розладів, з порушенням когнітивних функцій. Когнітивні розлади виявляють не менше ніж у

90% пацієнтів з ХП та посилюються по мірі прогресування захворювання, а на пізній стадії у 80% пацієнтів досягають ступеня деменції [7]. Деменція та пов'язані з нею поведінкові порушення на пізній стадії захворювання можуть утрудняти догляд за хворим, тому раннє виявлення та лікування когнітивних порушень при ХП мають велике значення [5].

Безпосередньо для корекції когнітивних порушень на цей час використовують лікарські засоби, які впливають на дофамінергічну, норадренергічну, холинергічну та глутаматергічну передачу. В останні роки була доведена роль гліцину як гальмівного нейротрансмітера практично у всіх відділах ЦНС. Було виявлено, що ГАМК і гліцин є рівноцінними нейротрансмітерами, що забезпечують захисне гальмування в ЦНС, роль якого зростає в умовах підвищеного викиду глутамату [8] через взаємодію з NMDA-рецепторами. Нейропротекторний ефект гліцину пов'язаний, очевидно, з активацією ГАМК і гліцинових сигнальних мереж [10, 11]. На сьогодні можливості використання гліцину за

умов ХП з урахуванням базової терапії амантадином раніше не вивчалось, також не визначений вплив гліцину на рухові порушення при паркінсонізмі.

Мета роботи - провести порівняльну оцінку можливої антипаркінсонічної дії гліцину за умов експериментальних еквівалентів паркінсонізму (акінетико-ригідної та треморної форми) на тлі антипаркінсонічної корекції амантадином.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди проведені на 60 білих безпородних щурах масою 180-230 г та на 60 білих мишах масою 21-23 г, які методом випадкової вибірки розподілені на 6 груп ($n=10$): група контролю (0,9% р-н NaCl) (I) та 5 дослідних. Нами вивчені прояви каталепсії (пригнічення дофамінергічної передачі, еквівалентної стану гіпокінезії та ригідності) та тремору (активація ацетилхолінергічної передачі, що відповідає паркінсонічному тремору) за умов використання амантадину 50 мг/кг (A) (II), гліцину 100 мг/кг (Г100) (III), гліцину 200 мг/кг (Г200) (IV) та сумісного використання A + Г100 (V) і A+Г200 (VI) [4]. Каталепсію у щурів викликали введенням трифтазину (2 мг/кг). Препарати порівняння та досліджувані речовини вводять разом з галоперідолом. Антагонізм з нейролептиком оцінюють за здатністю досліджуваних речовин зменшувати час каталептогенного стану та кількість тварин з каталепсією в групі. Тривалість каталепсії реєструють через 30, 60, 120 та 180 хвилин. Найбільш тривалий ефект виражений на 120 хвилині. Оцінку антикаталептогенного стану проводили за школою *Morpurgo* [3]. Тривалість каталепсії виражають у секундах по часу завмирання тварин у незручній позі на сходінках та оцінюють у балах.

Тварин усаджують на задні кінцівки, дотримуючись таких вимог. Щур, спираючись на передню лапку, яка знаходиться на сходінці, другу передню кінцівку повинен утримати без опори. Якщо щур зберігає цю позу протягом 10 сек при висоті сходінки 3 см, зараховують 1 бал, а при висоті сходінки 10 см – 2 бали. Праву та ліву лапки по чергово поміщають на нижню (3 см) та верхню (10 см) сходінки. Тому на піку розвитку каталепсії одна тварина може отримати максимально 6 балів. Спроба усадити тварину у вимушену позу не повинна перевищувати 1 хвилини; при цьому ступінь каталепсії оцінюють у балах у всієї групи.

Холінергічна модель паркінсонічного тремору відтворюється різними способами первинної активації холінергічних нейронів хвостатого ядра (інтракаудальне введення АХ з прозеріном)

або ж системним введенням ареколіну чи оксетреморину. Антитреморну дію досліджуваних засобів та їх комбінацій оцінювали за бальною шкалою: 0 – відсутність тремору, 1 – локальний дрібноамплітудний тремор голови та кінцівок; 2 – локальний середньоамплітудний тремор; 3 – генералізований тремор. Тремор викликали в мишей – підшкірним введенням ареколіну (25 мг/кг), за півгодини вводили досліджувані засоби та їх комбінації [3].

Всі отримані дані оброблено загальнопринятими в медико - біологічних дослідженнях методами статистичного аналізу з використанням стандартних пакетів комп'ютерних програм. Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (M), їх похибок ($\pm m$). Встановлення достовірності міжгрупових відмінностей по значеннях показника порогу больового реагування проводилося за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента, критерію рангових сум Вілкоксона (Wilcoxon Rank-Sum test), критерію Манна-Уїтні та методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними при рівні $p \leq 0,05$. Перед застосуванням параметричних критеріїв проводилася перевірка гіпотези про нормальний закон розподілу випадкових величин [2].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз змін показників каталептогенного стану у щурів протягом 120 хв. експерименту, результати якого представлені в таблиці 1, свідчить про те, що на фоні введення А, Г100 і Г200 та їх комбінацій прояви каталепсії зберігались у всіх досліджуваних групах. Заслужують на увагу зміни проявів ригідності та стану каталепсії під впливом гліцину та його комбінацій з амантадином: так, під впливом А+Г100 та А+Г200 прояви каталепсії через 30 хв. реєструвалися в 50-60% тварин з оціночним показником у 0,6 та 0,7 бала, та протягом 120 хв. спостерігались показники змін рухової активності у 80% тварин (90 хв.), причому характеризувались низьким показником каталепсії в межах 1,0-1,8 бала (при максимально можливих 6 балах). Зокрема, у щурів з монотерапією А наприкінці експерименту прояви олігокінезії спостерігалось також у 40% тварин, проте оціночний критерій дорівнював 1,8 бала. Позитивна динаміка реєструвалася на тлі використання Г100 та Г200: каталепсія на 90 хв. експерименту спостерігалась у 100% обох груп тварин з оціночним критерієм у 3,8 бала. Для порівняння: в групі контролю на цей час каталепсія усіх щурів оцінювався 5 балами та спостерігалась також у 100% тварин.

Показники стану каталепсії у щурів на фоні ведення амантадину, гліцину та їх сумісного застосування

Експериментальні групи	Показники	Час, хвилини			
		30	60	90	120
1	3	4	5	6	7
Контроль (каталепсія = трифтазин)	% тварин з каталепсією	60	100	100	100
	бали	1,4	3,6	5,0	5,4
Каталепсія + А 50 мг/кг	% тварин з каталепсією	30	40	70	40
	бали	0,5	0,8	1,6	1,8
Каталепсія + Г-100 (100 мг/кг)	% тварин з каталепсією	60	90	100	100
	бали	1,0	2,4	3,8	2,6
Каталепсія + Г-200 (200 мг/кг)	% тварин з каталепсією	60	90	100	100
	бали	1,4	2,6	3,8	3,6
Каталепсія + А+Г100 (50:100)	% тварин з каталепсією	50	70	80	60
	бали	0,6	1,4	1,8	1,6
Каталепсія А+Г200 (50:200)	% тварин з каталепсією	60	60	50	40
	бали	0,7	1,0	1,1	0,5

Таким чином, нами встановлена позитивна антикаталептогенна дія комбінацій амантадину з гліцином у дозі 200 мг/кг за умов пригнічення дофамінергічної передачі трифтазином протягом 120 хв.

Відомо, що тремор спокою – тремтливий гіперкінез, виникає в той час, коли м'язи розслаблені та не здійснюють активних рухів, у стані спокою м'язи зазнають впливу тільки сили гравітації. Тремор спокою посилюється при збен-теженні та розумовій напрузі. Цей вид тремору

найтипівіший для хвороби Паркінсона. Тремор спокою генерується центральним пейсмеркером тремору.

Показано, що у всіх дослідних групах за умов ареколінового тремору на фоні введення амантадину та А сумісно з гліцином тремор спостерігався у 100% тварин. При цьому дещо змінювалась тривалість латентного періоду тремору при введенні амантадину та А сумісно з Г100 та Г200: цей показник був майже у 2 рази тривалішим порівняно з показниками контрольної групи (табл. 2).

Таблиця 2

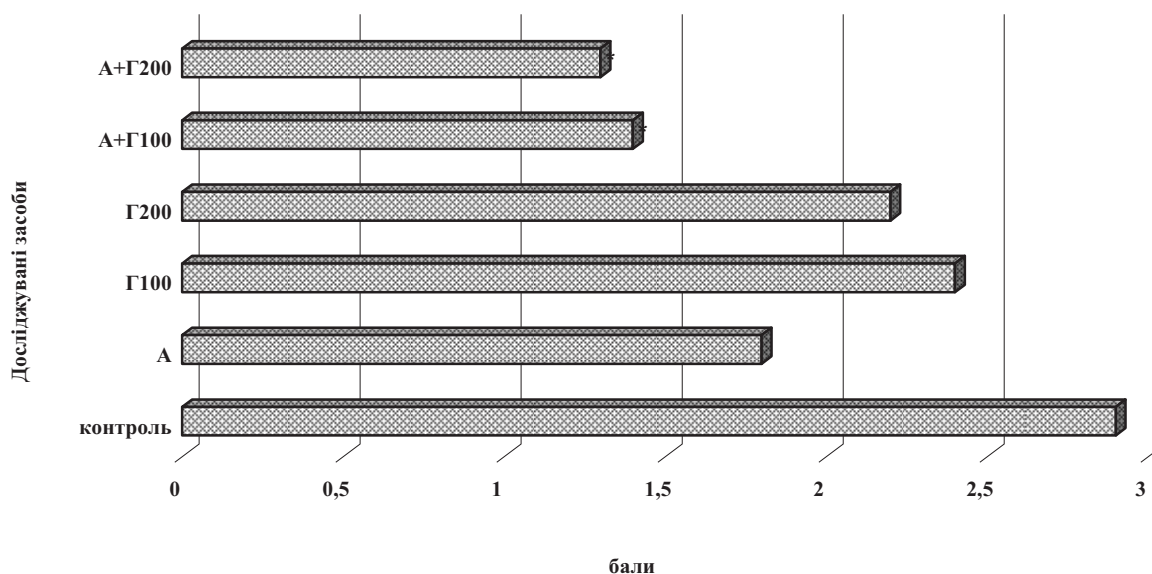
Показники антитреморної дії у мишей за умов введення амантадину, гліцину та їхнього сумісного застосування на моделі активації ацетилхолінергічної системи ареколіном (M±m)

Дослідні групи	Доза, мг/кг вн/шл	Тривалість латентного періоду, с	Тривалість продовження тремору, хв
Контроль (тремор = ареколін)	0,1 мл/100г	48,6±12,9	39,3±7,3
Тремор + А 50 мг/кг	50	121,8*±7,6	18,7*±1,96
Тремор + Г-100 (100 мг/кг)	100	51,9±5,7	32,9±5,7
Тремор + Г-200 (500 мг/кг)	200	67,9±6,5	33,7±3,9
Тремор + А+Г100 (50:100)	50:100	84,8*±4,2	25,6*±5,3
Тремор А+Г200 (50:200)	50:200	105,0*±8,1	19,4*±2,2

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до показників групи контролю.

За результатами оцінювання феноменології тремору встановлено, що в групі контролю його інтенсивність була максимально вираженою – 2,9 бала (рис.). Прояви його з оцінкою у 2,4-2,2 бала спостерігались на фоні отримання Г в дозі 100 та 200 мг/кг відповідно. Проте на фоні введення комбінацій А+Г100 та А+Г200 інтенсивність тремору була у 2,1 разу ($p \leq 0,05$) та у 2,2 разу ($p \leq 0,05$) нижче відповідно порівняно з показниками групи контролю.

Отже, шляхом аналізу змін антитреморної дії за умов активації холінергічної системи на фоні терапії амантадином нами встановлено, що гліцину у дозі 100 мг/кг та 200 мг/кг сприяє оптимізації антитреморної дії амантадину, що виражається у збільшенні латентного періоду тремору, зменшенні його тривалості та ослабленні інтенсивності майже у 2 рази.



Інтенсивності тремору (у балах) за умов введення амантадину, гліцину та їхнього сумісного застосування на моделі активації ацетилхолінергічної системи ареколіном

Примітка: * - $p \leq 0,05$ по відношенню до показників групи контролю.

ПІДСУМОК

На підставі одержаних даних щодо вивчення антипаркінсонічної дії гліцину в дозі 100 мг/кг та 200 мг/кг на тлі базової терапії амантадином за умов пригнічення дофамінергічної передачі (каталепсія) та активації холінергічної передачі

(ареколіновий тремор) можна зробити висновок, що сумісне використання амантадину та гліцину є ефективним, а саме: спостерігається зниження проявів експериментального паркінсонізму.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Карабань І.Н. Блокаторы глутаматных рецепторов (Неомидантан) в патогенетической терапии болезни Паркинсона и других неврологических заболеваний (метод. рекомендации) / И.Н. Карабань, Н.В. Карабань, Н.В. Карасевич. – Киев, 2004. – 24 с.
2. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2001. – 408 с.
3. Макаренко О.В. Сучасний погляд на доклінічне вивчення антипаркінсонічних засобів / О.В. Макаренко, В.Й. Мамчур / Ліки. – 2007. – № 3-4. – С. 3-11.
4. Мамчур В.Й. Алгоритм доклінічної оцінки (загальна фармакологія, специфічна активність) анти-

- паркінсонічних засобів: метод. рекомендації / В.Й. Мамчур, О.В. Макаренко, С.М. Дронов. – Київ, 2009. – 21 с.
5. Страчунская Е.Я. Паркинсонизм с позиций современных информационных концепций медицины / Е.Я. Страчунская. – Смоленск, 2008. – 208 с.
6. Эпидемиология болезни Паркинсона в Украине / Е.А. Труфанов, Ю.И. Головченко, Т.Н. Слободин, О.Н. Суховерская // Междунар. неврол. журнал. – 2012. – № 7 (53). Электронный доступ [<http://www.mif-ua.com/archive/article/34961>].
7. Bailey M. Characterizing Cognitive Impairment in Parkinsons Disease / Bailey M., Goldman J.G. // Semin Neurol. – 2017. – Vol. 37, N 2. – P. 167-175.

8. Cervetto C. GABAA and strychnine-sensitive glycine receptors modulate N-methyl-D-aspartate-evoked acetylcholine release from rat spinal motoneurons: a possible role in neuroprotection // *C. Cervetto, G. Taccola / Neuroscience*. – 2008. – Vol. 154, N 4. – P. 1517-1524.

9. Connolly B.S. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review / B.S. Connolly, A.E. Lang // *JAMA*. – 2014. – Vol. 311, N 16. – P. 1670-1683.

10. Kvrivishvili G. Glycine and neuroprotective effect of hypothermia in hypoxic-ischemic brain damage / G. Kvrivishvili // *Neuroreport*. – 2002. – N 13, N 16. – P. 1995-2000.

11. Neuroprotective effect of taurine against focal cerebral ischemia in rats possibly mediated by activation of both GABAA and glycine receptors / G.H. Wang, Z.L. Jiang, X.J. Fan, L. Zhang [et al.] // *Neuropharmacol.* – 2007. – Vol. 52, N 5. – P. 1199-1209.

REFERENCES

1. Karaban YN, Karaban NV, Karasevych NV. [Blockers of glutamate receptors (Neomidantan) in the pathogenetic therapy of Parkinson's disease and other neurologic diseases (guidelines)]. Kyiv. 2004;24. Russian.

2. Lapach SN, Chubenko AV, Babych PN. [Statistical methods in biomedical research using EXCEL]. Kyiv. Moryon, 2001;408. Ukrainian.

3. Makarenko OV, Mamchur VI. [Modern view on preclinical study of antiparkinsonian drugs]. *Liky*. 2007;3-4:3-11. Ukrainian.

4. Mamchur VI, Makarenko OV, Dronov SM. [Algorithm of preclinical evaluation (general pharmacology, specific activity) of antiparkinsonian drugs. Guidelines]. Kyiv. 2009;21. Ukrainian.

5. Strachunskaja EIa. [Parkinsonism from the standpoint of modern information concepts of medicine]. Smolensk. 2008;208. Russian

6. Trufanov EA, Holovchenko YuY, Slobodyn TN, Sukhovskaia ON. [Epidemiology of Parkinson's disease in Ukraine]. *Mezhdunarodnii nevrolohicheskyi zhurnal*. 2012;7(53). Russian.

7. Bailey M, Goldman JG. Characterizing Cognitive Impairment in Parkinsons Disease. *Semin Neurol*. 2017;37(2):167-75.

8. Cervetto C, Taccola G. GABAA and strychnine-sensitive glycine receptors modulate N-methyl-D-aspartate-evoked acetylcholine release from rat spinal motoneurons: a possible role in neuroprotection. *Neuroscience*. 2008;154(4):1517-24.

9. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*. 2014;311(16):1670-83.

10. Kvrivishvili G. Glycine and neuroprotective effect of hypothermia in hypoxic-ischemic brain damage. *Neuroreport*. 2002;13(16):1995-2000.

11. Wang GH, Jiang ZL, Fan XJ, Zhang L, Li X, Ke KF. Neuroprotective effect of taurine against focal cerebral ischemia in rats possibly mediated by activation of both GABAA and glycine receptors. *Neuropharmacology*. 2007;52(5):1199-209.

Стаття надійшла до редакції
17.05.2017

