

*А.В. Перлова, М.М. Шинкарук-Диковицька, Л.О. Ковальчук, О.В. Куцак*

## Порівняльна характеристика впливу препарату на основі амантадину гідрохлорид на зміни показників титрів нейромаркерів при експериментальному ятрогенному компресійно-токсичному ураженні нижнього альвеолярного нерва у нормоглікемічних кролів та на тлі алоксанового цукрового діабету

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, Україна

**Резюме.** В умовах експериментального дослідження нормоглікемічних тварин і створення алоксанового цукрового діабету (АЦД) як преморбідного тла ятрогенне пошкодження нижнього альвеолярного нерва пломбувальними матеріалами на основі резорцин-формаліну та епоксидної смоли викликає деструктивно-дегенеративні зміни, про що свідчило підвищення титрів нейромаркерів NSE та білка S 100. Після 30-денної терапії препаратом на основі гідрохлориду амантадину в дозі 10 мг/кг обидва показники в обох досліджуваних групах значно зменшились. Показники титру NSE та білка S 100 у групі з АЦД в обох підгрупах були в 1,94 та в 1,87 рази менше, що свідчить про ефективність його використання при даній патології, але в порівнянні із групою нормоглікемічних тварин ці показники були в 1,1 та в 1,72 рази менше, що відбувалось на тлі паралельного зменшення титрів білка S 100 в 1,99 та у 2,04 рази, що вказує про наявність у даного препарату нейропротективної активності. Це у свою чергу спонукає до його подальшого клінічного дослідження та залучення препарату на основі гідрохлориду амантадину до основного протоколу лікування пацієнтів із ЦД.

**Ключові слова:** ятрогенне компресійно-токсичне ураження нижнього альвеолярного нерва, алоксановий цукровий діабет, нейронспецифічна енолаза, білок S100, гідрохлорид амантадину, нейропротекція.

### Актуальність

Судинні та неврологічні ушкодження є одним із провідних симптомів прояву цукрового діабету (ЦД). У більшості випадків їх вираженість визначає працездатність хворих, прогноз захворювання та тривалість їх життя. У зв'язку з цим своєчасна й точна діагностика та лікування діабетичних ангіо- та нейропатій набувають провідне значення в загальній медицині та мають міждисциплінарний характер [1]. У практичній стоматології нерідко зустрічається таке ускладнення, як ятрогенне компресійно-токсичне ураження нижнього альвеолярного нерва (ЯКТУ НАН), і, на жаль, воно не оминає пацієнтів із цукровим діабетом.

Відомо, що після первинного руйнування волокон нижнього альвеолярного нерва (НАН) при його ятрогенному компресійно-токсичному ураженні механізм невальної альтерації пов'язаний з формуванням дефіциту макроергів і дискоординації в циклі трикарбонових кислот, розвитком лактат-ацидозу, глутаматної та стероїдної нейротоксичності, оксидативного та нітрозативного стресу, запуску каскаду

арахідонової кислоти, з утворенням цитокінів та інтерлейкінів, індукцією апоптотичних програм і невронекрозу [2, 3].

Такі біохімічні зміни в НАН мають несприятливий прогноз у пацієнтів із цукровим діабетом, оскільки постійна, довготривала гіперглікемія має нейротоксичну дію за рахунок порушення мікроциркуляції.

Відсутність ефективного нейроцитопротектора з доведеною ефективністю та стандартне призначення цукрознижувальних препаратів пояснює недостатню ефективність і безпечність терапії таких хворих і призводить до небажаної поліпрагмазії, що підвищує ризик небезпечної лікарської взаємодії та розвитку побічних ефектів. Альтернативою поліпрагмазії є використання препаратів з політропними фармакологічними ефектами, які відповідають патогенезу нейродеструкції та ЦД, зокрема лікарських засобів, що здатні ослаблювати прояви глутаматної ексайтотоксичності. За нашими попередніми результатами експериментальних і клінічних досліджень, було встановлено доцільність використання нейромаркерів

(NSE й титрів білка S 100) як ранніх діагностичних показників та ефективність використання препарату на основі гідрохлориду амантадину як найефективнішого нейропротектора [4, 5, 6].

**Метою** даного дослідження було проведення порівняльної оцінки впливу препарату на основі гідрохлориду амантадину при експериментальному ятрогенному компресійно-токсичному ураженні нижнього альвеолярного нерва кролів на тлі алоксанового ЦД та в нормоглікемічних кролів за зміною активності нейрон-специфічної енолази (NSE) й титрів білка S 100.

### Матеріали та методи

Експеримент проводили на 48 кролях-самцях породи Шиншила. Тварини знаходились на загальному раціоні харчування, мали вільний доступ до води та їжі при стандартних умовах перебування у клітках віварію ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Вік тварин складав від 5 до 6-ти місяців. Маса кролів коливалась у межах 2–2,5 кг. Для моделювання цукрового діабету тваринам після 24-годинного голодування робили одноразову внутрішньовенну (крайова вена вуха) ін'єкцію моногідрату алоксану (Sigma, USA) у дозі 250 мг/кг. У наступні дні, після визначення рівня глюкози у крові, для подальшого експерименту відбирали тварин, у яких рівень показників глікемії був не менш ніж 10 ммоль/л. Моделювання експериментального ушкодження нижнього альвеолярного нерва проводили за власною розробленою методикою (патент України № 30029) [7]. Токсична дія на нижній альвеолярний нерв відбувалася двома пломбувальними матеріалами: першу підгрупу тварин піддавали дії матеріалом на основі резорцин-формаліну (підгрупа «А»), другу – на основі епоксидних смол (підгрупа «Б»). Лікувальну терапію розпочинали на другу добу після формування патології в обох групах і підгрупах тварин до 30-ї доби експерименту. Введення препарату на основі гідрохлориду амантадину здійснювали в дозі 10 мг/кг внутрішньошлунково (в/ш), попередньо формуючи з нього

водну суспензію (на дистильованій воді), і таким чином отримували об'єм розчину 5 мл/кг і вводили натще через орогастральний зонд (патент України № 125481) [8].

Оцінку величини деструкції нервових волокон проводили за змінами показників нейрон-специфічної енолази (NSE) як маркера ушкодження мієлінової оболонки, використовуючи набір «NSE ELISA KIT» (DAI, USA) та визначали наростання проліферативних процесів у нервовому волокні за змінами показників титру білка S 100 за допомогою набору «ELISA-KIT» (Fujirebio Diagnostics Inc., Швеція) та приладу «Hipson», Чехія.

Попередні експериментальні дослідження показали, що найбільш високі показники титрів NSE спостерігаються на 14 добу після ушкодження нижнього альвеолярного нерва, а білка S 100 – на 30-у добу [9].

Обробку отриманих результатів дослідження проводили за допомогою традиційних статистичних методів з врахуванням відносних величин, середньої арифметичної, помилки репрезентативності та середнього квадратичного відхилення. Результати обробляли за допомогою статистичної програми StatPlus 2009. Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

### Результати й обговорення

Проведені дослідження показали, що показники нейрон-специфічної енолази (NSE) як у групі тварин з алоксановим ЦД, так і у групі нормоглікемічних тварин на 14 добу експерименту були значно вище, що вкотре підтверджує теорію наростання явищ нейродеструкції в нервовому волокні, причому у групі з алоксановим ЦД діабетом ці показники були вище в 40,38 разу (у підгрупі «А») та у 38,23 разу (у підгрупі «Б») в порівнянні з початковими показниками, а у групі нормоглікемічних тварин у 36,24 та 31,12 разу відповідно (табл. 1).

Після терапії препаратом на основі гідрохлориду амантадину ці показники значно знизились в обох групах і підгрупах досліджуваних тварин. Так, на 14 добу

Таблиця 1

**Зміна показників активності NSE у групі тварин з алоксановим ЦД та в нормоглікемічних тварин на тлі лікувальної терапії препаратом на основі гідрохлориду амантадину протягом 14-ти діб ( $M \pm m$ ,  $n = 14$ )**

| Строк спостереження        | Рівень активності NSE, нг/мл. Тварини з АЦД |                | Рівень активності NSE, нг/мл. Нормоглікемічні тварини |                |
|----------------------------|---|----------------|---|----------------|
|                            | Група «А» (Р-Ф)                             | Група «Б» (ЕС) | Група «А» (Р-Ф)                                       | Група «Б» (ЕС) |
| Фонові значення активності | 0,561±0,027*                                | 0,406±0,015*   | 0,337±0,008*  | 0,304±0,008*   |
| Перший день експерименту   | 22,654±0,641*                               | 15,519±0,326*  | 12,213±0,263*   | 9,460±0,154*   |
| 14 доба терапії            | 11,644±0,347*                               | 8,314±0,233*   | 5,679±0,247*  | 2,939±0,111*   |

Примітка: NSE – нейрон-специфічна енолаза;  $p < 0,05$  відносно фонових значень.

**Зміна показників активності титру білка S 100  
у групі тварин з алоксановим ЦД та в нормоглікемічних тварин  
на тлі лікувальної терапії препаратом на основі гідрохлориду амантадину  
на 30-у добу експерименту (M±m, n = 14)**

| Строк спостереження        | Рівень активності білка S 100, нг/мл. Тварини з АЦД |                | Рівень активності білка S 100, нг/мл. Нормоглікемічні тварини |                |
|----------------------------|---|----------------|---|----------------|
|                            | Група «А» (Р-Ф)                                     | Група «Б» (ЕС) | Група «А» (Р-Ф)   | Група «Б» (ЕС) |
| Фонові значення активності | 0,501±0,012*  | 0,666±0,027*   | 0,600±0,028*  | 0,626±0,022*   |
| 14 доба                    | 21,603±0,469*                                       | 16,107±0,352*  | 16,571±0,169*   | 11,860±0,324*  |
| 30 доба терапії            | 10,88±0,241*  | 7,877±0,092*   | 8,981±0,134*  | 6,956±0,156*   |

Примітка: p < 0,05 відносно фонових значень.

в I групі в підгрупі «А» в 1,94 разу, а в підгрупі «Б» в 1,87 разу, у II групі в підгрупі «А» у 2,15 разу, а в підгрупі «Б» у 3,22 разу. На нашу думку, ЦД має сильну нейротоксичну дію, яка при використанні різних пломбувальних матеріалів може підсилюватись.

Некробіотичні явища в НАН після 14-ти доби замінюються активацією нейроглії, яка є аналогом сполучної тканини, що утворюється в межах некротизованої тканини. Тобто стрімко наростає титр білка S 100 (табл. 2).

Згідно з отриманими даними, виявлено, що на 30 добу терапії препаратом на основі гідрохлориду амантадину показники титрів білка S 100 в I групі в підгрупі «А» знизились у 1,98 разу відносно 14 доби, у підгрупі «Б» у 2,04 разу, натомість у II групі в підгрупі «А» в 1,84 разу, а в підгрупі «Б» в 1,71 разу відносно 14-ї доби експерименту. Проведена порівняльна оцінка отриманих даних показала, що на тлі терапії препаратом на основі гідрохлориду амантадину при ЯКТУ НАН у дозі 10 мг/кг в/ш проявляє захисний вплив на структури нервового волокна при обох патологічних станах, на користь чого свідчить активна деескалація показників титрів NSE та білка S 100.

Отже, при патогенетичному перериванні первинних реакцій глутамат-кальцієвого каскаду за рахунок блокування надмірної активності NMDA-рецепторів проявляється нейропротекторний ефект в умовах ЯКТУ НАН як ЦД, так і за його відсутності, а препарат на основі гідрохлориду амантадину можна використовувати за новим призначенням у комбінації із загальною терапією.

### Висновки

На тлі лікувальної терапії препаратом на основі гідрохлориду амантадину в дозі 10 мг/кг в/ш показники титру NSE та білка S 100 у групі з АЦД в обох підгрупах були в 1,94 і в 1,87 разу менше, що свідчить про ефективність його використання при даній патології, але в порівнянні із групою нормоглікемічних тварин ці показники були в 1,1 і в 1,72 разу менше, що відбувалось на тлі паралельного зниження титрів білка S 100 в 1,99 та 2,04 разу, що вказує про наявність у даного препарату нейропротективної активності. Це у свою чергу спонукає до його подальшого клінічного дослідження та залучення препарату на основі гідрохлориду амантадину до основного протоколу лікування пацієнтів із ЦД.

### ПОСИЛАННЯ

1. Citicoline in the treatment of acute ischaemic stroke: an international, randomised, multicentre, placebo-controlled study (ICTUS trial) / A. Davalos, J. Alvarez-Sabin, J. Castillo et al. // *Lancet*. – 2012. – Vol. 380. – P. 349–357 [in English]
2. Khodakovskiy AA. Osobennosti formirovaniya postreperfusionnogo povrezhdeniya neuronov – kharakteristika modely «ishemiya–reperfuzya». Novyye napravleniya v perspektive razvitiya sovremennoy terapii ishemycheskogo insulta / A.A. Khodakovskiy, L.Y. Marynych, O.V. Bahaury // *Vrach-aspirant*. – 2013. – № 3 (58). – P. 69–76 [in Russian]
3. Morozova MN, Shablyi DN, Kalyberdenko VB. Ultrastrukturnye izmeneniya v nervnom volokne, izuchennye na tksperimentalnoi modeli ostroi travmy nizhnego alveoliarnogo nerva // *Tavricheskiy mediko-biologicheskiy vestnyk*. – 2013, t. 16, № 3, ch. 3 (63). – P. 87-91 [in Russian]
4. Pogorila AV. Dynamika aktivnosti neuron-spetsyifichnoi enolazy i tytriv bilka S 100 u syrovatitsi krovi khvorykh na yatrogenno-kompresiyno-toksychne urazhenniya nizhnogo alveoliarnogo nerva za riznoi likuvalnoi taktiky / A.V. Pogorila, O.A. Khodakovskiy, M.M. Shinkaruk-Dykovytska // *Visnyk Vinnytskogo natsionalnogo medychnogo universytetu*. – 2018. – № 1 (т. 22). – P. 112–119 [in Ukrainian]
5. Pogorila AV. Dynamika aktivnosti neuron-spetsyifichnoi enolazy ta tytriv bilka S 100 u syrovatitsi krovi khvorykh na yatrogenno-kompresiyno-toksychne urazhenniya nizhnogo alveoliarnogo nerva za riznoi likuvalnoi taktiky / A.V. Pogorila, O.A. Khodakovskiy, M.M. Shinkaruk-Dykovytska // *Visnyk Vinnytskogo natsionalnogo medychnogo universytetu*. – 2018. – № 1 (т. 22). – P. 112–119 [in Ukrainian]

6. Pogorila AV. Yatrohenne kompresiiino-toksychnne urazhennia nyzhnogo alveoliarnono nerva plombuvalnymy materialamy: diagnostyka za aktyvnistiu tytriv neuro-markeriv (NSE, bilok S 100) ta neiroprotektorna terapiya (eksperymentalno-klinichne doslidzhennia): dys. kand. med. nauk: 14.01.22 / Natsionalna medychna akademiia pislidyplomnoi osvity im. P.L. Shupyka MOZ Ukrainy. – Kyiv, 2019 [in Ukrainian]
7. Pat. 30029 Ukraina, MPK (2006) A61S 5/00 (2006.01). Sposib eksperymentalnogo vychennia dii plombuvalnykh materialiv na tkanyny organizmu / Shuvalov S.M., Pogorila A.V.; zaiavnyk i patentovlasnyk Vinnytskyi natsionalnyi medychnyi universytet im. M.I. Pyrogova. – № u200710480; zaiavl. 21.09.2007; opubl. 11.02.2008. – 4 p. [in Ukrainian]
8. Pat. 125481 Ukraina, MPK (2018.01) A61K 31/00 G09B 23/28 (2006.01). Sposib likuvannia yatrogennoho kompresiiino-toksychnogo urazhennia nyzhniogo alveoliarnono nerva / Pogorila A.V., Shinkaruk-Dykovytska M.M., Khodakivskiy O.A.; zaiavnyk i patentovlasnyk Vinnytskyi natsionalnyi medychnyi universytet im. M.I. Pyrogova. – № u 2017 12217; zaiavl. 11.12.2017; opubl. 10.05.2018. – 4 p. [in Ukrainian]
9. Pogorila AV, Shinkaruk-Dykovytska MM. Obhruntuvannia vykorystannia neiromarkeriv (NSE, bilok S 100) yak diagnostychnykh markeriv poshkodzhennia nyzhniogo alveoliarnogo nerva v eksperymenty // Intermedical journal. – 2018. – II (12). – p. 71–76 [in Ukrainian].

### Сравнительная характеристика влияния препарата на основе амантадина гидрохлорид на изменения показателей титров нейромаркеров при экспериментальном ятрогенном компрессионно-токсическом поражении нижнего альвеолярного нерва у нормогликемических кроликов и на фоне алоксанового сахарного диабета

*А.В. Перлова, М.М. Шинкарук-Диковицкая, Л.О. Ковальчук, О.В. Куцак*

**Резюме.** В условиях экспериментального исследования нормогликемических животных и создание алоксанового сахарного диабета (АСД) как преморбитного фона ятрогенное повреждение нижнего альвеолярного нерва пломбирочными материалами на основе резорцин-формалина и эпоксидной смолы вызывает деструктивно-дегенеративные изменения, о чем свидетельствовало повышение титров нейромаркеров NSE и белка S 100. После 30-дневной терапии препаратом на основе гидрохлорида амантадина в дозе 10 мг/кг оба показателя в обеих исследуемых группах значительно снизились. Показатели титра NSE и белка S 100 в группе с АСД в обеих подгруппах были в 1,94 и в 1,87 раза меньше, что свидетельствует об эффективности его использования при данной патологии, но по сравнению с группой нормогликемических животных эти показатели были в 1,1 и в 1,72 раза меньше, что происходило на фоне параллельного снижения титров белка S 100 в 1,99 и 2,04 раза, что указывает о наличии у данного препарата нейропротективной активности. Это в свою очередь располагает к его дальнейшему клиническому исследованию и привлечению препарата на основе гидрохлорида амантадина к основному протоколу лечения пациентов с СД.

**Ключевые слова:** ятрогенное компрессионно-токсическое поражение нижнего альвеолярного нерва, алоксановый сахарный диабет, нейроспецифическая эналаза, белок S 100, гидрохлорид амантадина, нейропротекция.

### Comparative characteristics of the effect of the drug based on amantadine hydrochloride on changes in the titers of neuromarkers in experimental iatrogenic compression-toxic lesions of the lower alveolar nerve in normoglycemic rabbits and on the background of alloxan diabetes

*A. Perlova, M. Shinkaruk-Dikovitskaya, L. Kovalchuk, O. Kutsak*

**Resume.** Under the conditions of an experimental study of normoglycemic animals and the creation of alloxan sugar diabetes (ASD) as a premorbid background, iatrogenic damage to the lower alveolar nerve by filling materials based on resorcinol-formalin and epoxy resin causes destructive - degenerative changes, as evidenced by an increase in neuromarker titers NSE and S100 protein. After a 30-day therapy with a drug based on amantadine hydrochloride at a dose of 10 mg / kg, both indicators in both study groups significantly decreased. The titers of NSE and S100 protein in the group with ASD in both subgroups were 1.94 times, and 1.87 times less, which indicates the effectiveness of its use in this pathology, but compared with the group of normoglycemic animals, these indicators were 1.1 times and 1.72 times less, which occurred against the background of a parallel decrease in S 100 protein titers by 1.99 and 2.04 times, which indicates the presence of neuroprotective activity in this drug. This, in turn, is conducive to its further clinical research and the involvement of a drug based on amantadine hydrochloride in the main protocol for the treatment of patients with diabetes.

**Key words:** iatrogenic compression-toxic lesion of the lower alveolar nerve, alloxan sugar diabetes, neuron-specific enolase, S 100 protein, amantadine hydrochloride, neuroprotection.

*Перлова Анна Василівна – канд. мед. наук, доцент кафедри терапевтичної стоматології  
Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.*

*Шинкарук-Диковицка Марія Михайлівна – професор, д-р мед. наук,  
завідувач кафедри терапевтичної стоматології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.*

*Ковальчук Ліна Олександрівна – канд. мед. наук, доцент кафедри терапевтичної стоматології  
Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова*

*Куцак Олеся Володимирівна – асистент, канд. мед. наук кафедри педіатрії № 2  
Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.*