

MARIA RUTKOWSKA, IWONA MIERNIK

Wpływ amantadyny na działanie przeciwdepresyjne fluoksetyny i moklobemidu u myszy

Influence of Amantadine on the Antidepressant Activity of Fluoxetine and Moclobemide in Mice

Katedra i Zakład Farmakologii AM we Wrocławiu

Streszczenie

Wprowadzenie. Depresje lekooporne są istotnym problemem klinicznym. Skuteczność terapeutyczna strategii leczenia opartych na teorii monoaminowej jest ograniczona. Jest oczywiste, że istnieje konieczność wprowadzenia nowej generacji leków o innych mechanizmach działania. Amantadyna – bezkompetycyjny antagonist receptoru N-metylo-D-asparaginowego (NMDA), stosowany w leczeniu choroby Parkinsona i grypy, wykazuje działanie przeciwdepresyjne. Wydaje się, że lek ten może być wykorzystany klinicznie w celu nasilenia działania typowych leków przeciwdepresyjnych.

Cel pracy. Badano wpływ amantadyny na działanie przeciwdepresyjne fluoksetyny i moklobemidu.

Materiał i metody. Badania wykonano na myszach, samcach szczepu Albino-Swiss. Działanie przeciwdepresyjne oceniano w teście pływania i teście z L-5-HTP.

Wyniki. W teście pływania amantadyna w dawkach 10 i 20 mg/kg *i.p.* działała przeciwdepresyjnie i wykazała synergizm z fluoksetyną i moklobemidem. W teście z L-5-HTP amantadyna była nieaktywna i nie wpływała na działanie leków przeciwdepresyjnych.

Wnioski. Uzyskane wyniki wskazują, że amantadyna może nasilać działanie typowych leków przeciwdepresyjnych (Adv Clin Exp Med 2004, 13, 4, 535–539).

Słowa kluczowe: amantadyna, receptor NMDA, działanie przeciwdepresyjne, fluoksetyna, moklobemid.

Abstract

Background. Treatment-resistant depression is an important clinical problem. Therapeutic efficacy of monoamine theory-based treatment strategies is limited. It is clear that a novel generation of drugs with different mechanisms is needed. Amantadine, an uncompetitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist used in the treatment of Parkinson's disease and influenza, shows antidepressant activity. It seems that this drug may be used clinically to enhance the efficacy of typical antidepressant drug.

Objectives. The influence of amantadine on the antidepressant activity of fluoxetine and moclobemide was studied.

Material and Methods. The experiments were carried out on male Albino-Swiss mice. The forced swimming test and 5-HTP test were used to evaluate antidepressant activity.

Results. In the forced swimming test amantadine at doses of 10 and 20 mg/kg *i.p.* showed an antidepressant activity and produced synergistic effect with fluoxetine and moclobemide. In the L-5-HTP test amantadine had no effect and did not alter the action of antidepressant drugs.

Conclusion. The obtained results indicate that the amantadine may potentiate the effect of typical antidepressants (Adv Clin Exp Med 2004, 13, 4, 535–539).

Key words: amantadine, receptor NMDA, antidepressant activity, fluoxetine, moclobemide.

Ograniczona (60–70%) skuteczność terapeutyczna leków przeciwdepresyjnych, działających przez układ noradrenergiczny i/lub serotoniner-giczny, niewiele wyższa od skuteczności *placebo* (40%), a niższa od efektywności nieswoiście dzia-

lających elektrowstrząsów, wskazuje na zaangażowanie w mechanizmy przeciwdepresyjne również innych niż monoaminoergiczne układów neuro-przekaźnikowych [1]. Szczególnie istotna wydaje się rola neuroprzekaźników aminokwasowych za-

równie hamujących (udział kwas γ -aminomasłowego w patogenie depresji sugerowany jest od szeregu lat), jak i pobudzających.

W badaniach receptorowych, a także funkcjonalnych (elektrofizjologicznych, biochemicznych i behawioralnych) stwierdzono desensytyzację receptora N-metylo-D-asparaginowego (NMDA), jednego z podtypów jonotropowych receptorów kwasu glutaminowego, po wielokrotnym stosowaniu leków przeciwdepresyjnych lub elektrowstrząsów [2, 3]. Wykazano też działanie przeciwdepresyjne antagonistów receptora NMDA w wielu zwierzęcych modelach depresji [4].

Blokada receptorów NMDA stwarza ryzyko wystąpienia poważnych objawów niepożądanych, takich jak: działanie psychozomimetyczne, zaburzenia pamięci, ataksja, zmiany neurodegeneracyjne. Niemniej jednak leki tego typu, m.in. amantadyna, są już stosowane klinicznie z niewielkimi skutkami ubocznymi. Są to bezkondycyjni antagoniści receptora NMDA (leki blokujące kanał jonowy), których wspólną cechą jest małe powinowactwo oraz odwrotna zależność blokady kanału jonowego od potencjału błony komórkowej. Pierwsza cecha decyduje o szybkim odblokowaniu kanału, druga sprawia, że przy normalnej transmisji (krótkotrwała silna depolaryzacja) blokada jest minimalizowana, a przy patologicznej aktywacji (długotrwała umiarkowana depolaryzacja) jest względnie stabilna [5].

Istnieją dane kliniczne potwierdzające działanie przeciwdepresyjne amantadyny [6, 7] i jej skuteczność w depresjach opornych na typowe leki przeciwdepresyjne [8].

Ponieważ aktywność przeciwdepresyjna amantadyny wynika głównie z antagonizmu do receptora NMDA, można przypuszczać, iż lek ten będzie nasilał działanie typowych leków przeciwdepresyjnych, działających przez układy monoaminergiczne [9,10].

Celem pracy było zbadanie wpływu amantadyny na działanie przeciwdepresyjne leków nowej generacji o różnych mechanizmach działania: fluoksetyny – selektywnego inhibitora wychwytu zwrotnego serotoniny i moklobemidu – inhibitora MAO-A.

Material i metody

Badania przeprowadzono na myszach, samcach szczepu Albino-Swiss (18–25 g) w standardowych warunkach laboratoryjnych, w godzinach między 9⁰⁰ a 13⁰⁰. Grupy kontrolne i badane liczyły po 6–10 zwierząt.

Badane substancje: amantadynę (Viregyt-K, Egis), fluoksetynę (Prozac, Eli Lilly), moklobemid

(Aurorix, Hoffmann – La Roche) i L-5-hydroksytryptofan (L-5-HTP, Sigma) podawano w postaci zawiesiny w 1% roztworze wodnym Tweenu 80 w objętości 10 ml/kg. Zwierzęta kontrolne otrzymywały 1% Tween 80 w takiej samej objętości.

Działanie przeciwdepresyjne amantadyny i jej interakcję z fluoksetyną i moklobemidem oceniano w teście pływania według Porsolta [11]. Interakcję z fluoksetyną zbadano również testem z L-5-HTP stosowanym do oceny działania leków nasilających transmisję serotonergiczną. Protokół eksperymentów został zaaprobowany przez Lokalną Komisję Etyczną.

Test pływania

Mysz umieszczano pojedynczo w szklanym w pojemniku (w kształcie cylindra o wysokości 25 cm i średnicy 10 cm) wypełnionym wodą (21–23°C) do wysokości 6 cm. U zwierząt znajdujących się w takich warunkach występują na przemian okresy intensywnych ruchów i okresy bezruchu (rezygnacji, odpowiadające depresji). Czas trwania bezruchu jest miarą depresji zwierzęcia. Po 2 minutach przeznaczonych na adaptację przez następne 4 minuty mierzono łączny czas trwania bezruchu.

Leki podawano dootrzewnowo (*i.p.*), godzinę przed badaniem; pojedynczo w dawkach: amantadyna – 10 i 20 mg/kg, fluoksetyna – 20 mg/kg, moklobemid – 10 mg/kg oraz łącznie w następujących połączeniach: amantadyna – 10 mg/kg z fluoksetyną – 20 mg/kg, amantadyna – 20 mg/kg z fluoksetyną – 20 mg/kg, amantadyna – 20 mg/kg z moklobemidem – 10 mg/kg.

Wpływ na reakcję potrząsania głową wywołaną L-5-HTP

L-5-HTP w dawce 200 mg/kg wstrzykiwano *i.p.* godzinę po podaniu badanych leków lub ich połączeń. Potrząsania głową liczono w sześciu dwuminutowych przedziałach czasowych: 4–6, 14–16, 24–26, 34–36, 44–46, 54–56 minut po podaniu L-5-HTP.

Leki stosowano pojedynczo w dawkach: fluoksetyna – 40 mg/kg *p.o.* (sondą dożołądkowo), amantadyna – 10 i 20 mg/kg *i.p.* oraz w następujących kombinacjach: amantadyna – 10 mg/kg *i.p.* z fluoksetyną 40 mg/kg *p.o.*, amantadyna – 20 mg/kg *i.p.* z fluoksetyną 40 mg/kg *p.o.*

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono testem t-Studenta (różnice uznano za istotne dla $p \leq 0,05$).

Wyniki

Test pływania

Amantadyna w dawkach 10 i 20 mg/kg *i.p.* w sposób proporcjonalny do zastosowanej dawki skracała czas bezruchu myszy w teście pływania odpowiednio o 20,2 i 55,6%. Fluoksetyna w dawce 20 mg/kg *i.p.* skracała czas bezruchu o 36,8%, a moklobemid w dawce 10 mg/kg *i.p.* o 30,6%.

Łączne podanie amantadyny w dawce 10 mg/kg z fluoksetyną w dawce 20 mg/kg wywoływało efekt zbliżony do obserwowanego po samej fluoksetynie. Po łącznym zastosowaniu leków z dawką amantadyny 20 mg/kg wystąpiło znaczne skrócenie czasu bezruchu myszy (o 92,9%), a uzyskane różnice były statystycznie istotne zarówno w porównaniu do grupy kontrolnej, jak i obu leków podanych samodzielnie. Podobny, ale słabiej wyrażony efekt, uzyskano stosując amantadynę (20 mg/kg) z moklobemidem (10 mg/kg) (tab. 1).

Wpływ na reakcję potrząsania głową wywołaną L-5-HTP

Amantadyna w dawkach 10 i 20 mg/kg nie wpływała na reakcję potrząsania głową wywołaną L-5-HTP. Fluoksetyna w dawce 40 mg/kg zwiększała liczbę epizodów potrząsania głową do 465,6%

Po jednoczesnym podaniu amantadyny w dawce 10 lub 20 mg/kg z fluoksetyną w dawce 40 mg/kg natężenie reakcji potrząsania głową było zbliżone do obserwowanego po samej fluoksetynie, przy czym u części zwierząt, która otrzymała 2 leki z większą dawką amantadyny wystąpił pełnoobjawowy zespół serotoninowy (płaska postawa ciała, abdukcja kończyn tylnych, kloniczne drgawki łap przednich, drżenie głowy i drżenia całego ciała, ogon Strauba) (tab. 2).

Omówienie

W teście pływania amantadyna – bezkompetycyjny antagonist receptoru NMDA, wykazała działanie przeciwdepresyjne u myszy porównywalne z działaniem leków przeciwdepresyjnych nowej generacji: fluoksetyny i moklobemidu. Jest to zgodne z wynikami wcześniejszych badań przeprowadzonych na szczurach [12].

Ponieważ amantadyna jest lekiem niewybiórczym [13], jej aktywność w teście pływania może wynikać z kilku mechanizmów warunkujących pozytywny wynik w tym teście, a mianowicie: blokowania receptora NMDA [14], nasilenia przekazywania noradrenergicznego [12] i pobudzenia

Tabela 1. Wpływ amantadyny na działanie przeciwdepresyjne fluoksetyny i moklobemidu w teście pływania

Table 1. The effect of amantadine on the antidepressant action of fluoxetine and moclobemide in the forced swimming test

Dawka (Dose) mg/kg	Czas bezruchu (Immobility time) (s) ± SEM	%
Kontrola (Control)	121,9 ± 4,3	100
Amantadyna 10 (Amantadine)	97,3 ± 2,3*	79,8
Amantadyna 20 (Amantadine)	54,1 ± 8,2*	44,4
Fluoksetyna 20 (Fluoxetine)	77,0 ± 6,1*	63,2
Moklobemid 10 (Moclobemide)	84,6 ± 9,2*	69,4
Amantadyna 10 (Amantadine)	72,8 ± 7,4* ^a	59,7
Fluoksetyna 20 (Fluoxetine)	8,6 ± 1,8* ^{ab}	7,1
Amantadyna 20 (Amantadine)		
Fluoksetyna 20 (Fluoxetine)		
Amantadyna 20 (Amantadine)	26,1 ± 4,5* ^{ac}	21,4
Moklobemid 10 (Moclobemide)		

* $p \leq 0,05$ w porównaniu do kontroli.

^a $p \leq 0,05$ w porównaniu do odpowiedniej amantadyny.

^b $p \leq 0,05$ w porównaniu do fluoksetyny.

^c $p \leq 0,05$ w porównaniu do moklobemidu.

* $p \leq 0,05$ compared to control.

^a $p \leq 0,05$ compared to respective amantadine.

^b $p \leq 0,05$ compared to fluoxetine.

^c $p \leq 0,05$ compared to moclobemide.

receptora sigma₁ [15]. Nie wydaje się, aby skrócenie czasu bezruchu było skutkiem pobudzenia aktywności ruchowej, gdyż nie obserwowano takiego efektu po dawkach amantadyny zastosowanych w badaniach [16, 17].

W badaniach interakcji, po łącznym podaniu amantadyny z fluoksetyną i moklobemidem, stwierdzono znaczne skrócenie czasu bezruchu myszy – był istotnie krótszy od czasu pływania myszy, którym podawano amantadynę i leki przeciwdepresyjne samodzielnie. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze doniesienia o synergicznym działaniu amantadyny z lekami przeciwdepresyjnymi. Tego typu interakcje stwierdzili Maj et al. [16] oraz Rogoż et al. [17] badając na szczurach wpływ amantadyny na aktywność imipraminy, fluoksetyny i wenlafaksyny.

Stwierdzony synergizm wynika prawdopodobnie z różnych mechanizmów leżących u podłoża działania przeciwdepresyjnego badanych w te-

Tabela 2. Wpływ amantadyny na aktywność fluoksetyny w teście z L-5-HTP**Table 2.** The effect of amantadine on the activity of fluoxetine in the 5-HTP test

Dawka (Dose) mg/kg	Liczba reakcji potrzęsania głową (Number of head twitches responses) \pm SEM	%
Kontrola (Control)	3,20 \pm 0,30	100
Amantadyna 10 (Amantadine)	3,63 \pm 0,80	113,3
Amantadyna 20	3,13 \pm 0,60	97,7
Fluoksetyna 40 (Fluoxetine)	14,90 \pm 1,60*	465,6
Amantadyna 10 (Amantadine)	13,40 \pm 1,60 ^a	418,7
Fluoksetyna 40 (Fluoxetine)		
Amantadyna 20 (Amantadine)	14,88 \pm 1,90 ^a	464,8
Fluoksetyna 40 (Fluoxetine)		

* $p \leq 0,05$ w porównaniu do kontroli.

^a $p \leq 0,05$ w porównaniu do odpowiedniej amantadyny.

* $p \leq 0.05$ compared to control.

^a $p \leq 0.05$ compared to respective amantadine.

ście pływania leków. Działanie fluoksetyny jest skutkiem pośredniej stymulacji receptora serotonergicznego 5-HT_{2C} [18], a moksobemid, hamując MAO-A, pobudza przekazywanie noradrenergiczne i serotonergiczne. Efekty te są nasilane przez

blokadę receptora NMDA wywołaną podaniem amantadyny [13, 14].

W teście z L-5-HTP, służącym do oceny leków przeciwdepresyjnych o serotonergicznym mechanizmie działania, amantadyna była nieaktywna i nie wpływała w sposób istotny na działanie fluoksetyny.

Reakcja potrzęsania głową wywoływana przez L-5-HTP jest skutkiem pobudzenia receptora 5-HT_{2A} [19], a nasilają ją leki pobudzające przekazywanie serotonergiczne.

Badania neurochemiczne wskazują, że amantadyna stymuluje przekazywanie serotonergiczne, efekt ten pojawia się jednakże po zastosowaniu większych dawek (> 50 mg/kg). W teście stosowano dawkę 20 mg/kg, co może tłumaczyć brak wpływu amantadyny na reakcję potrzęsania głową.

Wydaje się jednak, że powinowactwo amantadyny do struktur serotonergicznnych może mieć istotne znaczenie w sytuacji jednoczesnego zastosowania selektywnego inhibitora wychwytu serotoniny. W teście z L-5-HTP łączne podanie amantadyny z fluoksetyną nie zmieniało co prawda natężenia reakcji potrzęsania głową, spowodowało jednak wystąpienie innych objawów zespołu serotoninowego, charakterystycznych dla stymulacji receptora 5-HT_{1A} [19].

Podsumowując wyniki przeprowadzonych badań, można stwierdzić, że amantadyna ma właściwości przeciwdepresyjne. Nasila też działanie typowych leków przeciwdepresyjnych, co może być wykorzystane w leczeniu skojarzonym depresji lekoopornej.

Piśmiennictwo

- [1] **Pilc A, Bijak M, Nowak G:** Perspektywy badań nad lekami przeciwdepresyjnymi. W: Neuropsychofarmakologia dziś i jutro. Red. Bijak M, Lasoń W, Instytut Farmakologii PAN, Kraków 2000, 123–148.
- [2] **Nowak G:** Czy osłabienie transmisji glutaminergicznej jest efektem działania leków przeciwdepresyjnych? Farm Pol 2000, 56, 796–800.
- [3] **Nowak G, Pilc A:** Wszystkie drogi prowadzą do NMDA, czyli mechanizm działania LPD w świetle najnowszych badań. Farm Pol 2000, 56, 163–167.
- [4] **Skolnick P:** Antidepressants for the new millennium. Eur J Pharmacol 1999, 375, 31–40.
- [5] **Danysz W, Frankiewicz T, Parsons ChG:** Receptory glutaminergiczne. W: Receptory: struktura, charakterystyka, funkcja. Red. Nowak JZ, Zawilska JB, PZWL, Warszawa 1997, 161–189.
- [6] **Ferszt R, Kuhl KP, Bode L, Severus EW, Winzer B, Berghofer A, Beelitz G, Brodhun B, Muller-Oerlinghausen B, Ludwig H:** Amantadine revisited: an open trial of amantadine sulfate treatment in chronically depressed patients with Borna disease virus infection. Pharmacopsychiatry 1999, 19, 1119–1123.
- [7] **Huber TJ, Dietrich DE, Emrich HM:** Possible use of amantadine in depression. Pharmacopsychiatry 1999, 32, 47–55.
- [8] **Stryjer R, Strous RD, Shaked G, Bar F, Feldman B, Kotler M, Polak L, Rosenzwaig S, Weizman A:** Amantadine as augmentation therapy in the management of treatment-resistant depression. Int Clin Psychopharmacol 2003, 18, 93–96.
- [9] **Koszevska I:** Wybrane farmakologiczne metody potencjalizacji LPD. Farmakoter Psychiat Neurol 2000, 15–17.
- [10] **Landowski J:** Leczenie skojarzone depresji. Farmakoter Psychiat Neurol 1999, 2, 21–33.
- [11] **Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M:** Behavioral despair in rats, a new model sensitive to antidepressant treatments. Eur J Pharmacol 1978, 47, 379–391.
- [12] **Moryl E, Danysz W, Quack G:** Potential antidepressive properties of amantadine, memantine and bifenelane. Pharmacol Toxicol 1993, 72, 394–397.

- [13] **Danysz W, Parsons CG, Kornhuber J, Schmidt WJ, Quack G:** Amino-adamantanes as NMDA receptor antagonists and antiparkinsonian agents – preclinical studies. *Neurosci Biobehav Rev* 1997, 21, 455–468.
- [14] **Parsons CG, Danysz W, Bartmann A, Spielmanns P, Frankiewicz T, Hesselink M, Eilbacher B, Quack G:** Amino-alkyl-cyclohexanes are novel uncompetitive NMDA receptor antagonists with strong voltage-dependency and fast blocking kinetics; *in vitro* and *in vivo* characterization. *Neuropharmacology* 1999, 38,85–108.
- [15] **Kornhuber J, Schoppmeyer K, Riederer P:** Affinity of 1-aminoadamantanes for the sigma binding site in post-mortem human frontal cortex. *Neurosci Lett* 1993, 163, 129–131.
- [16] **Maj J, Rogoż Z:** Synergistic effect of amantadine and imipramine in the forced swimming test. *Pol J Pharmacol* 2000, 51, 471–475.
- [17] **Rogoż Z, Skuza G, Maj J, Danysz W:** Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *Neuropharmacology* 2002, 42, 1024–1030.
- [18] **Clenet F, De Vos A, Bourtin M:** Involvement of 5-HT_{2C} receptors in the anti-immobility effects of antidepressants in the forced swimming test in mice. *Eur Neuropsychopharmacology* 2001, 11, 145–152.
- [19] **Chojnacka-Wójcik E:** 5-hydroxytryptamine in the central nervous system. *Pol J Pharmacol* 1995, 3, 207–218.

Adres do korespondencji:

Maria Rutkowska
Katedra i Zakład Farmakologii AM
ul. Mikulicza-Radeckiego 2
50-345 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 1.10.2003 r.

Po recenzji: 16.10.2003 r.

Zaakceptowano do druku: 28.10.2003 r.

Received: 1.10.2003

Revised: 16.10.2003

Accepted: 28.10.2003