

© Нефедов А. А., Мамчур В. И.

УДК 616. 832-004-092. 9-08:615. 214. 2

Нефедов А. А., Мамчур В. И.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИТИКОЛИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ МОДЕЛИРОВАННОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

(г. Днепропетровск)

verashatornaya@yandex.ru

Исследование является фрагментом плановой научно-исследовательской работы кафедры фармакологии и клинической фармакологии ГУ «ДМА МЗ Украины» «Экспериментально-теоретическое обоснование особенностей обезболивающей и нейропротективной медикаментозной терапии в условиях моделируемой патологии», № государственной регистрации 0104U006269.

Вступление. ЦИТИКОЛИН представляет собой цитидин 5'-дифосфохолин (ЦДФ-холин) и состоит из двух компонентов – цитидина и холина, связанных дифосфатным мостиком. Это природное эндогенное соединение, которое является промежуточным метаболитом в синтезе фосфатидилхолина – одного из основных структурных компонентов клеточной мембраны. Биодоступность введенного в организм экзогенного цитиколина при пероральном и парентеральном введении достигает 100% [2].

Экспериментальные данные свидетельствуют, что цитиколин усиливает ресинтез фосфолипидов клеточной мембраны (мембранотропное действие), способствуя репарации и стабилизации мембран нейронов и их органелл, прежде всего митохондрий. Более того, показано, что цитиколин способствует восстановлению уровня и других фосфолипидов клеточных мембран (по-видимому, за счет снижения высвобождения арахидоновой кислоты и предотвращения активации фосфолипазы A_2). С мембранотропным действием препарата может быть связана его способность восстанавливать активность Na^+/K^+ -насосов. Кроме того, цитиколин может способствовать повышению уровня глутатиона и активности глутатионредуктазы, усиливая активность антиоксидантных систем. Благодаря снижению проницаемости гематоэнцефалического барьера препарат может способствовать уменьшению выраженности отека мозга, играющего важную роль в развитии вторичного повреждения мозга. Нейропротекторный эффект может быть связан и со снижением выброса глутамата, что ослабляет ишемический каскад на его ранней стадии [2].

Установлено, что цитиколин способствует усилению синтеза дофамина за счет активации тирозингидроксилазы, тормозящей обратный захват дофамина в нервные окончания [9] (как известно, дофаминергическая система имеет большое значение для осуществления когнитивных функций [12]).

Дефицит холина в культуре клеток гиппокампа и неокортекса запускает распространенный апоптоз

со снижением уровня фосфохолина и фосфатидилхолина в нейрональных мембранах [1]. При этом применение цитиколина способствует уменьшению содержания индукторов и росту экспрессии ингибитора апоптоза (TNF α -гранзим, Fas-лиганд семейства рецепторов фактора некроза опухолей) [6].

Следовательно, нейропротекторные свойства цитиколина обеспечиваются нейромедиаторным, нейрометаболическим и нейротрофическим механизмами, что обеспечивает нейрональную защиту на клеточном и молекулярном уровнях [2].

Указанные положения явились основанием для проведения исследования по влиянию эффектов цитиколина на неврологический статус, когнитивные функции и ориентировочно-исследовательскую активность экспериментальных животных в условиях моделированного аллергического энцефаломиелита.

Цель исследования – оценить эффективность нейропротективной терапии экспериментального аллергического энцефаломиелита цитиколином в условиях базовой терапии солу-медролом.

Объект и методы исследования. До начала выполнения работ комиссией по вопросам биоэтики утвержден протокол предстоящих исследований. Согласно требованиям GLP и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для опытных и других целей, согласованы все процедуры, связанные с содержанием животных, гуманным обращением с ними и их использованием в эксперименте.

Животных содержали в стандартных условиях со световым режимом день – ночь 12 час/12 час при температуре воздуха 20 – 22° С со свободным доступом к воде и пище. ЭАЭ индуцировали однократной подкожной инокуляцией энцефалитогенной смеси (ЭГС) в полном адьюванте Фрейнда (ПАФ) из расчета 100 мг гомогената гомологичного спинного мозга; 0,2 мл ПАФ (содержание убитых микобактерий 5 мг/мл) и 0,2 мл физиологического раствора на животное. ЭГС вводили в основание хвоста под легким эфирным наркозом в объеме 0,4 мл [5]. Иммунизированные животные были разделены на 3 группы: I – животные с ЭАЭ (активный контроль), n=12; II – ЭАЭ + солу-медрол (СМ: 3,4 мг/кг), n=10; III – ЭАЭ + СМ + цитиколин (Ц: 500 мг/кг), n=10.

Солу-медрол вводили животным II – III групп согласно клиническому алгоритму применения препарата [13] из расчета 3,4 мг/кг в вену капельно в объеме физиологического раствора, составляющего

1/10 ОЦК [11] в течение недели. У грызунов III группы дополнительно, на фоне базовой гормональной терапии, внутривенно один раз в сутки вводили исследуемые вещества в указанных дозах со второго по 20-й день после индукции ЭАЭ (латентная фаза + клиническая фаза до окончания пика заболевания). Группой контроля выступали животные с индуцированным ЭАЭ (I группа), в течение 20 дней внутривенно получавшие дистиллированную воду.

Ежедневно в течение месяца (средняя продолжительность ЭАЭ) животных взвешивали и оценивали их неврологический статус: регистрировали время начала заболевания, его продолжительность и тяжесть неврологических нарушений, которую оценивали в баллах по клиническому индексу. Клинический индекс (КлиНИ) определяли по шкале: мышечная слабость одной конечности – S балла, парез – 1 балл, паралич – 1 S балла. При вовлечении в процесс нескольких конечностей баллы суммировали. Отсутствие нарушений принимали за 0 баллов, летальный исход – 6 баллов. Животных с клиническим индексом S – 2 S балла считали легко болеющими; 3 – 6 баллов соответствовало тяжелому течению ЭАЭ. Для интегральной оценки тяжести ЭАЭ для каждого животного рассчитывали кумулятивный индекс (КумуЛИ) – сумму индивидуальных клинических индексов за период болезни [10].

Для анализа эффективности протективного действия цитиколина на модели ЭАЭ для каждой группы крыс рассчитывали: 1) продолжительность латентного периода; 2) общее число заболевших и тяжело больных крыс (в % от числа в группе); 3) средний клинический индекс на пике заболевания; 4) средний кумулятивный индекс болезни; 5) среднюю длительность заболевания. Все показатели сравнивали с соответствующими показателями животных контрольной группы и группы, получавшей базовую терапию солу-медролом.

Оценка интегративных функций головного мозга проведена в тесте условной реакции пассивного избегания (УРПИ). Указанный рефлекс формировали в камере размером 60 Ч 30 Ч 35 см, разделенной на три равных отсека; с освещенного центрального отсека дверцы вели в темные боковые [4]. Центральный отсек являлся освещенным, а левый и правый – темными, оснащенными электрифицированным полом.

На 10-й день после индукции ЭАЭ (латентная фаза заболевания) животных помещали в камеру с открытыми дверцами и в течение 3 минут регистрировали латентный период захода в один из темных отсеков. На 11-й животное помещали в светлый отсек, при этом дверца в левый отсек оставалась закрытой. После захода крысы в правый отсек дверь закрывали и животному через электрифицированный пол наносили 5 ударов током силой 1 мА с интервалом 5 сек и длительностью каждого импульса 1 сек. Регистрировали латентный период захода в темный отсек (ЛП₁).

На 12-е сутки проводили тестирование. Животных помещали в стартовый отсек при обеих открытых дверях. Наблюдение проводилось в течение 3 минут. Важным критерием на данном этапе было количество животных, оставшихся в центральном отсеке, что свидетельствовало о степени обучения экспериментальных животных. Также фиксировали латентный

период захода в темный отсек (ЛП₂) для животных с отсутствующим навыком. На 20-ый день проводили тестирование на сохранность памятного следа (ЛП₃) и устанавливали процент животных с сохраненным навыком.

Для оценки эффективности воспроизведения навыка УРПИ при использовании исследуемого образца определяли коэффициент антиамнестической активности (K_{Аа}) по следующей формуле [8]:

$$K_{Аа} = \frac{(\Delta ЛП_{\text{препарат}} - \Delta ЛП_{\text{ЭАЭ}})}{(\Delta ЛП_{\text{интактные}} - \Delta ЛП_{\text{ЭАЭ}})} \cdot 100\%$$

где $\Delta ЛП = ЛП_{\text{тестирование}} - ЛП_{\text{выработка рефлекса}}$
 Тестирование – двигательно-исследовательской

активности и эмоционального состояния экспериментальных животных проводили в последние сутки введения препарата: определяли количество пересеченных квадратов (горизонтальная активность), вертикальных подъемов и заглядываний в норки (исследовательская активность), а также продолжительность актов груминга и количество болюсов дефекаций (эмоциональное состояние) в течение 3 минут [3]. Все исследования проведены при комнатном освещении во временном интервале от 12 до 17 часов.

Цифровые экспериментальные данные обрабатывали методом вариационной статистики с помощью персональной компьютерной техники – Intel Pentium-IV и программы статистического анализа AnalystSoft, StatPlus. Версия 2007 [7]. Математическая обработка полученных данных включала в себя расчет средних арифметических значений (M), их ошибок ($\pm m$).

Сравнительный анализ клинического и кумулятивного индекса проведен с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Для оценки достоверности различий долей больных и тяжело больных крыс по сравнению с контролем использовали более точный критерий Фишера, а для анализа латентного периода и продолжительности ЭАЭ – критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений.

Результаты исследований и их обсуждение.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что в условиях однократной подкожной инокуляции ЭГС в полном адьюванте Фрейнда у животных контрольной группы регистрировалось развитие неврологических нарушений различной степени тяжести; летальный исход заболевания наблюдался у одного из 12 грызунов (8,3%) (табл. 1).

После индукции ЭАЭ у крыс группы контроля первые неврологические симптомы заболевания были зафиксированы на 9 – 11 сутки. Пик клинических проявлений энцефаломиелита у большинства животных развивался на 12 – 14 сутки и продолжался в среднем 4 дня; при этом длительность ЭАЭ составила $16,4 \pm 1,8$ дней при среднем кумулятивном индексе 27,2 баллов.

На пике клинических проявлений ЭАЭ количество животных с клиническим индексом S – 2 S балла составило 41,7% крыс, что соответствовало легкой степени заболевания, а тяжелое течение ЭАЭ наблюдалось у 58,3% грызунов (клинический индекс 3 – 6 баллов).

Введение солу-медрола (3,4 мг/кг в вену капельно в течение недели) устраняло летальные исходы, полностью предупреждало развитие неврологических

Оценка неврологического статуса животных в условиях ЭАЭ на фоне курсового введения цитиколина и базовой терапии солу-медролом

Показатели	Группы животных				
	% заболевших животных, всего/ тяжело	Латентный период ЭАЭ, дни	Средний Клини на пике ЭАЭ, баллы	Средний Кумули, баллы	Длительность ЭАЭ, дни
Контроль, ЭАЭ (n=12)	91,7/58,3	10,6±,2	2,4	27,2	16,4±1,8
ЭАЭ + СМ (n=10)	80/30	16,8*±1,8	1,6*	9,4*	8,4*±0,9
ЭАЭ + СМ + Ц (n=10)	60/10	19,4*±2,1	1*•	6,6*	5,0*•±0,4

Примечание: * – p < 0,05 (отличия достоверны по сравнению с ЭАЭ-контролем); • – p < 0,05 (отличия достоверны по сравнению с группой СМ).

нарушений у 20% животных, а также уменьшало количество грызунов с тяжелым течением ЭАЭ до 30%. При этом первые неврологические симптомы ЭАЭ были зарегистрированы в среднем через 16,8 дней, протекали кратковременно (продолжительность ЭАЭ укорачивалась в 2 раза, p < 0,05) и в легкой или среднетяжелой форме (клинический индекс на пике заболевания уменьшался в 1,5 раза (p < 0,05), кумулятивный – практически в 3 раза (p < 0,05) (табл. 1).

Курсовое применение цитиколина (500 мг/кг) со второго по 20 день после инокуляции ЭГС на фоне терапии солу-медролом предупреждало развитие ЭАЭ у 40% животных, а также уменьшало количество грызунов с тяжелым течением ЭАЭ до одного из десяти (10%). Кроме того, сочетанное применение цитиколина и метилпреднизолона сильнее уменьшало выраженность неврологических нарушений. В частности, в данной серии исследований на 38% снижался клинический индекс на пике ЭАЭ, на 30% – кумулятивный индекс заболевания, а также укорачивалась продолжительность ЭАЭ с 8,4 до 5 дней по сравнению с группой, получавшей базовую гормональную терапию (табл. 1).

Установлено, что нейропротективная терапия цитиколином на фоне введения солу-медрола у крыс с ЭАЭ способствовала достоверно значимому увеличению времени пассивно-оборонительного рефлекса на 12 и 20 сутки исследования (табл. 2). Препарат статистически достоверно увеличивал продолжительность ЛП₂ и ЛП₃ по сравнению с группой активного контроля, что свидетельствовало о положительном влиянии этого лекарственного средства на процессы ввода информации и способность предупреждать ускоренное угасание приобретенного условного навыка в условиях экспериментальной патологии. Так, цитиколин (500 мг/кг) способствовал увеличению латентного периода, на 49% (p < 0,05) и 63% (p < 0,05) превосходящее данный показатель группы активного контроля на 12 и 20 сутки тестирования пассивно-оборонительного навыка соответственно (табл. 2).

Таблица 1

Антиамнестическая активность препарата характеризовалась ростом показателя K_{АА}, который составлял 84% и 95% соответственно на 12 и 20 сутки эксперимента. Процент животных с приобретенным или сохраненным навыком на 55% (p=0,06) и 30% (p=0,06) превышал значения группы активного контроля в соответствующие промежутки времени, что подтверждало высокий ноотропный потенциал цитиколина у крыс с ЭАЭ.

Показано, что у ЭАЭ-ассоциированных животных ориентировочно-исследовательская активность под влиянием курсового

применения цитиколина на фоне терапии солу-медролом усиливалась за счет роста всех исследуемых показателей. Так, число горизонтальных переходов, количество заглядываний в норки и показатели вертикальной активности достоверно увеличивались на 73,9% (p < 0,01), 87% (p < 0,05) и 120% (p < 0,05) соответственно относительно показателей животных с ЭАЭ (табл. 3).

Вероятно, положительная динамика изменений неврологического статуса, когнитивных процессов и безусловно-рефлекторного поведения грызунов с экспериментальным эквивалентом рассеянного склероза под влиянием солу-медрола объясняется нормализацией нарушений в гематоэнцефалическом барьере, которые развиваются при ЭАЭ вследствие ингибирования противовоспалительных цитокинов и ускорения апоптоза иммунных клеток. Поскольку олигодендроциты имеют кортикостероидные рецепторы, кортикостероиды могут также способствовать разделению олигодендроцитов и ремиелинизации аксонов [15].

Вместе с тем, цитиколин, вводимый на фоне базовой гормональной терапии, принимает участие в биосинтезе мембранных фосфолипидов нейронов. Фосфолипиды формируют структурно-функциональную основу нейрональных мембран, обеспечивающих

Таблица 2
Влияние совместного введения цитиколина (Ц) и солу-медрола (СМ) на процессы обучения и консолидации энграмм памяти в тесте УРПИ в условиях ЭАЭ, M ± m

Группы животных	Латентный период, сек		
	10 сутки, ЛП ₁	12 сутки, ЛП ₂	20 сутки, ЛП ₃
Пассивный контроль (интактные), n=10	20,2±2,23	168,7±9,23	145,2±14,22
Активный контроль (ЭАЭ), n=12	18,2±1,72	104,2*±13,15	84,8*±12,48
ЭАЭ + СМ + Ц (n=10)	16,6±1,73	155,3*±16,39	138,5*±15,73

Примечание: * – p < 0,05 (отличия достоверны по сравнению с пассивным контролем), • – p < 0,05 (отличия достоверны по сравнению с активным контролем).

Таблица 3
Оценка поведенческих реакций у крыс с экспериментальным аллергическим энцефаломиелиитом в тесте «открытое поле» ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных (n = 10)			
	Интактные (n = 10)	ЭАЭ (n = 12)	ЭАЭ + СМ (n = 10)	ЭАЭ + СМ + Ц (n = 10)
Горизонтальная активность	19,7 ± 2,09	8,8* ± 0,83	12,8* ± 1,19	15,3* ± 1,57
Вертикальная активность	3,5 ± 0,52	1,5* ± 0,34	1,8 ± 0,33	3,3* ± 0,42
Исследовательская активность	5,2 ± 0,68	2,3* ± 0,56	2,7 ± 0,47	4,3* ± 0,44
Груминг	14,7 ± 1,45	11,3 ± 1,19	12,5 ± 1,07	13,5 ± 1,44
Дефекации	1,2 ± 0,29	1,0 ± 0,26	1,3 ± 0,26	1,2 ± 0,33

Примечание: * – $p < 0,05$ (отличия достоверны по сравнению с интактной группой); * – $p < 0,05$ (отличия достоверны по сравнению с ЭАЭ-контролем).

деятельность нервных клеток мозга в целом. При этом цитиколин обеспечивает целостность цитоплазматических и митохондриальных нейрональных мембран, прежде всего, путем ослабления активности фосфолипазы A_2 , активации нейрональных митохондриальных цитохромоксидаз и торможения глутаматиндуцированного апоптоза [2, 14].

Таким образом, цитиколин является эффективным средством нейропротекции при ЭАЭ в условиях терапии солу-медролом.

Выводы.

1. Инокуляция энцефалитогенной смеси на 9 – 11 сутки у 91,7% животных группы контроля вызывает

развитие ЭАЭ, характеризующегося тяжелым и длительным течением, формированием когнитивного дефицита и угнетением ориентировочно-исследовательской активности;

2. Курсовое применение цитиколина при ЭАЭ в условиях базовой терапии солу-медролом предупреждает развитие неврологических нарушений и способствует кратковременному течению заболевания преимущественно в легкой форме;

3. Нейропротективная терапия цитиколином на фоне введения солу-медрола у животных с экспериментальным эквивалентом рассеянного склероза устраняет нарушения консолидации энграмм памяти и замедляет угасание пассивно-оборонительного навыка, а также способствует нормализации показателей ориентировочно-исследовательской активности.

Перспективы дальнейших исследований. ЭАЭ у крыс приводит к ультраструктурным изменениям нейронального, глиального и синаптического аппарата в структурах мозга экспериментальных животных, лежащих в основе демиелинизации, деструкции нейронов и последующей инициализации процессов апоптоза. С учетом изложенного, нами будет проведен анализ эффективности экспериментальной нейропротективной терапии цитиколином в отношении компенсаторно-адаптационных процессов в нейрональных и глиальных клетках, а также выраженности нарушений миелиновых нервных волокон.

Литература

1. Арушунян Э. Б. Нетрадиционный подход к оценке механизма специфического действия ноотропных средств / Э. Б. Арушунян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 68, № 2. – С. 59-67.
2. ВАСИЛОВСКИЙ В. В. Опыт применения препарата Цераксон у пациентов с рассеянным склерозом прогрессирующего типа течения / В. В. Васильовский, Н. П. Волошина, Т. Н. Ткачева [и др.] // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 1 (99). – С. 55 – 59.
3. Дронов С. М. Оцінка впливу засобів з ноотропною активністю на орієнтовно-дослідницьку активність у щурів з тривалою гіперглікемією / С. М. Дронов, В. І. Жилюк // Світ медицини та біології. – 2014. – № 4 (47). – С. 115 – 119.
4. Иноземцев А. Н. Изучение условного рефлекса пассивного избегания в модифицированной трехкамерной установке / А. Н. Иноземцев, А. П. Бельник, Р. У. Островская // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 2. – С. 67 – 69.
5. Нефьодов О. О. Моделювання та оцінка перебігу експериментального алергічного енцефаломієліту / О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур, Ю. В. Харченко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 4, Т. 2 (114). – С. 205 – 208.
6. Пашковська Н. В. Динаміка показників інтенсивності апоптозу у хворих на діабетичну енцефалопатію на тлі застосування цитиколіну / Н. В. Пашковська // Український неврологічний журнал. – 2009. – № 2 (11). – С. 43-48.
7. Програма статистического анализа [Электронный ресурс]: Режим доступа – www.analystsoft.com/ru.
8. Радионова К. С. Оригинальный ноотропный препарат «Ноопепт» устраняет дефицит памяти, вызванный блокадой М- и Н-холинорецепторов у крыс / К. С. Радионова, А. П. Бельник, Р. У. Островская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, № 1. – С. 65–68.
9. Saver J. L. Цитиколин: новые сведения о перспективном лекарственном средстве, осуществляющем нейропротекцию и нейрорепарацию / J. L. Saver // Международный неврологический журнал. – 2010. – № 1 (31). – С. 1 – 11.
10. Серебряная Н. Б. Исследование протективного действия препарата ферровир при остром экспериментальном аллергическом энцефаломиелите / Н. Б. Серебряная, Н. М. Карпенко, Ю. Л. Житнухин [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. IX, № 1. – С. 33 – 38.
11. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов – Киев : Авиценна, 2002. – 568 с.
12. Dopamine D_2 -agonist rotigotine effects on cortical excitability and central cholinergic transmission in Alzheimer's disease patients / A. Martorana, F. Di Lorenzo, Z. Esposito [et al.] // Neuropharmacology. – 2013. – № 64. – P. 108-113.
13. La Mantia L. Double-blind trial of dexamethasone versus methylprednisolone in multiple sclerosis acute relapses / L. La Mantia, M. Eoli, C. Milanese [et al.] // Europ. Neuro. – 1994. – № 34. – PP. 199 – 203.
14. Mir C. CDP-choline prevents glutamate-mediated cell death in cerebellar granule neurons / C. Mir, J. Clotet, R. Aledo [et al.] // J. Mol. Neurosci. – 2003. – Vol. 20, № 1. – P. 53 – 60.

15. Sloka J. S. The mechanism of action of methylprednisolone in the treatment of multiple sclerosis / J. S. Sloka, M. Stefanelli // Mult. Scler. – 2005. – № 11. – P. 425 – 432.

УДК 616. 832-004-092. 9-08:615. 214. 2

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИТИКОЛИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ МОДЕЛИРОВАННОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА

Нефедов А. А., Мамчур В. И.

Резюме. В работе проведен анализ эффективности нейропротективной терапии экспериментального аллергического энцефаломиелита цитиколином в условиях базовой терапии солу-медролом.

Экспериментальный аллергический энцефаломиелит (ЭАЭ) развивался на 9 – 11 сутки после инокуляции энцефалитогенной смеси и характеризовался тяжелым и длительным течением (средний кумулятивный индекс 27,2; средняя продолжительность болезни 16,4 дня), развитием когнитивного дефицита и угнетением двигательной-исследовательской активности.

Курсовое применение цитиколина (500 мг/кг) в условиях базовой гормональной терапии солу-медролом предупреждало развитие неврологических нарушений и способствовало кратковременному течению заболевания преимущественно в легкой форме. При этом нейропротективная терапия цитиколином на фоне введения метилпреднизолон у животных с экспериментальным эквивалентом рассеянного склероза устраняла нарушения консолидации энграмм памяти и замедляла угасание пассивно-оборонительного навыка, а также способствовала нормализации показателей ориентировочно-исследовательской активности.

Ключевые слова: цитиколин, экспериментальный аллергический энцефаломиелит, солу-медрол, нейропротекция.

УДК 616. 832-004-092. 9-08:615. 214. 2

ДОСВІД ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТИКОЛІНУ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРАПІЇ МОДЕЛЬОВАНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ

Нефьодов О. О., Мамчур В. Й.

Резюме. В роботі проведений аналіз ефективності нейропротективної терапії експериментального алергічного енцефаломієліту цитиколіном за умов базової терапії солу-медролом.

Експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ) розвивався на 9 – 11 добу після інюкуляції енцефалітогенної суміші і характеризувався важким і тривалим перебігом (середній кумулятивний індекс 27,2; середня тривалість хвороби 16,4 дні), розвитком когнітивного дефіциту та пригніченням рухово-дослідницької активності.

Курсове застосування цитиколіну (500 мг/кг) за умов базової гормональної терапії солу-медролом попереджало розвиток неврологічних порушень і сприяло короткочасному перебігу захворювання переважно в легкій формі. При цьому нейропротективна терапія цитиколіном на фоні введення метилпреднізолону у тварин з експериментальним еквівалентом розсіяного склерозу усувала порушення консолідації енграм пам'яті і уповільнювала згасання пасивно-оборонної навички, а також сприяла нормалізації показників орієнтовно-дослідницької активності.

Ключові слова: цитиколін, експериментальний алергічний енцефаломієліт, солу-медрол, нейропротекція.

UDC 616. 832-004-092. 9-08:615. 214. 2

The Experience of Citicoline Treatment in Simulated Experimental Therapy of Allergic Encephalomyelitis

Nefedov A. A., Mamchur V. I.

Abstract. Neuroprotective effects of Citicoline are provided neurotransmitter, neurometabolic and neurotrophic mechanisms that provides neuronal protection at the cellular and molecular levels. These provisions were the basis for a study on the influence of the effects of Citicoline on neurological status, cognitive function and motor research activity of experimental animals under conditions of simulated allergic encephalomyelitis.

Experimental allergic encephalomyelitis (EAE) was developed for 9 – 11 days after inoculation of encephalitogenic mixture. Most rodent control group prevailed severe and prolonged during EAE (mean cumulative index of 27.2; mean duration of illness of 16.4 days). In addition, it was characterized by the development of cognitive deficits and inhibition of motor research activity.

Introduction of Solu-Medrol (3.4 mg/kg into a vein during the week) eliminated deaths, completely prevents the development of neurological disorders in 20% of animals, and also reduced the number of rodents with severe EAE to 30%. The first neurological symptoms of EAE were registered with an average of 16.8 days, proceeded short-term (duration of EAE is shortened by 2 times, $p < 0.05$) and in mild or moderate form (clinical index at the peak of the disease was reduced by 1.5 times ($p < 0.05$), cumulative – almost 3 times ($p < 0.05$)).

Course administration of Citicoline (500 mg/kg) from the second to the 20th day after inoculation of encephalitogenic mixture during therapy of Solu-Medrol prevented the development of EAE in 40% of animals, and also reduced the number of rodents with severe EAE to one in ten (10%). In addition, the combined use of Citicoline and Methylprednisolone stronger reduced the severity of neurological disorders. In particular, in this series of studies by 38% decreased clinical index at the peak of EAE, 30% – the cumulative index to diseases and shortened the duration of EAE from 8. 4 to 5 days compared with the group receiving basic hormonal therapy.

Neuroprotective therapy by Citicoline during administration of Solu-Medrol in rats with EAE positive influence on the processes of data entry and prevented accelerated the extinction of the acquired conditional skill in experimental

pathology. So, Citicoline (500 mg/kg) contributed to the increase in the latent period, 49 % ($p < 0.05$) and 63 % ($p < 0.05$) superior to the indicator of the active control group at 12 and 20 days of testing passive-defensive skill respectively.

Antiamnestic drug activity was characterized by the growth of C_{Aa} (coefficient antiamnestic activity), who was 84 % and 95 % respectively at 12 and 20 days of experiment. The percentage of animals with acquired skill or saved by 55 % ($p = 0.06$) and 30 % ($p = 0.06$) exceeded the value of the active control group at corresponding time intervals, which confirmed high nootropic potential of Citicoline in rats with EAE. It is shown that EAE-associated animals motor research activity under the influence of a course of citicoline treatment during therapy with Solu-Medrol increased due to the growth of all studied parameters. Thus, the number of horizontal transitions, the number of research holes and vertical indicators reliable activity was increased by 73.9 per cent ($p < 0.01$), 87 % ($p < 0.05$) and 120 % ($p < 0.05$) respectively compared animals with EAE.

Probably, Citicoline imposed on the background of underlying hormonal therapy, is involved in the biosynthesis of membrane phospholipids neurons. Phospholipids form the structural-functional basis of neuronal membranes, supporting the activity of nerve cells in the brain as a whole. Thus Citicoline ensures the integrity of neuronal cytoplasmic and mitochondrial membranes, primarily by attenuation of the activity of phospholipase A_2 activation of neuronal mitochondrial cytochromoxidase and inhibition of glutamate-induced apoptosis.

Keywords: Citicoline, experimental allergic encephalomyelitis, Solu-Medrol, neuroprotection.

Рецензент – проф. Литвиненко Н. В.

Стаття надійшла 06. 04. 2015 р.