

**ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТИКОЛИНА
ДЛЯ КОРРЕКЦИИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЦНС,
ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ
АЛЛЕРГИЧЕСКИМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТОМ**

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины» (г. Днепропетровск)

nefedov2406@gmail.com

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

Вступление. Рассеянный склероз (РС) является прогрессирующим аутоиммунным заболеванием ЦНС, при котором инфильтрация тканей мозга Т-клетками, проходящими через ГЭБ, является ключевым моментом в появлении характерного воспаления и развития демиелинизации. Полагают, что этот процесс может инициироваться попаданием вирусных или бактериальных факторов в нервную ткань и появлением их белков на мембранах олигодендроцитов и миелиновых оболочках [14,21]. Последующий аутоиммунный ответ направлен против миелиновых антигенов, что приводит к нарушениям в системе распознавания последних [3,12].

Т-клетки уже в присутствии местных аутоантигенов провоцируют развитие рассеянных периваскулярных очагов воспаления ЦНС [15]. Периваскулярная инфильтрация воспалительных клеток в ЦНС основана на их адгезии к эндотелиальным клеткам и последующей миграции через ГЭБ [20]. Синтезируемые Т-клетками провоспалительные цитокины (интерлейкин 2, лимфотоксин, γ -интерферон, фактор некроза опухолей – TNF- α) способствуют продолжающемуся усилению проницаемости ГЭБ. Кроме того, цитокины запускают процессы активации клеток микроглии, макрофагов и астроцитов [2,15]. В ответ микроглиальные клетки секретируют воспалительные цитокины и повышенное количество свободных радикалов, что способствует некрозу клеток, лизису мембран и интенсивному повреждению миелина и олигодендроцитов [13].

С учетом указанного, для повышения эффективности терапии рассеянного склероза целесообразным представляется применение компонентов нейропротективно-антиоксидантного комплекса, способствующее торможению прогрессирования РС, замедлению скорости апоптоза нейронов и олигодендроцитов, а также уменьшению интенсив-

ности повреждения миелина свободными радикалами, антителами и воспалительными цитокинами [4,7].

Одним из оптимальных средств нейропротективной терапии при рассеянном склерозе с позиций практической неврологии является цитиколин. 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, а также снижает выброс глутамата, что ослабляет ишемический каскад на его ранней стадии [1].

Указанные положения явились основанием для проведения исследования по изучению влияния цитиколина на ультраструктурные изменения фронтальной коры и гиппокампа, индуцированные экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом (ЭАЭ).

Цель исследования. Оценить влияние применения цитиколина на фоне базовой терапии солу-медролом на выраженность мультифокальной демиелинизации и аксональной дегенерации в гиппокампе и коре головного мозга экспериментальных животных в условиях ЭАЭ.

Объект и методы исследования. Исследования проведены на 18 белых крысах-самцах линии Вистар массой 200-220 г, шесть из которых (n=6) составляли I группу интактного контроля.

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°C со свободным доступом к воде и пище. ЭАЭ индуцировали у 12 животных опытных групп 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 [6]. Иммунизированные животные были разделены на 2 группы: II – животные с ЭАЭ (активный контроль), n=6; III – ЭАЭ + солу-медрол + цитиколин (3,4 мг/кг + 500 мг/кг), n=6.

О формировании экспериментального аллергического энцефаломиелита у животных этих групп судили по развитию у них неврологических нарушений, оцениваемых путем определения клинического и кумулятивного индекса ЭАЭ [10].

Солу-медрол вводили животным III группы согласно клиническому алгоритму применения препарата [16] из расчета 3,4 мг/кг в вену капельно в объеме физиологического раствора, составляющего 1/10 ОЦК в течение недели. Кроме того, дополнительно, на фоне базовой гормональной терапии, внутривенно один раз в сутки вводили цитиколин (500 мг/кг) со второго по 20-й день после индукции ЭАЭ (латентная фаза + клиническая фаза до окончания пика заболевания). Группой активного контроля выступали животные с индуцированным ЭАЭ (II группа), в течение 20 дней внутривенно получавшие дистиллированную воду.

Для ультраструктурного исследования образцы гиппокампа и коры головного мозга в течение 3-4 часов фиксировали при +2°C в 2,5% растворе глутаральдегида на 0,2 М фосфатном буфере (pH 7,3). Дальнейшая фиксация проводилась в 1% забуференном (pH 7,4) растворе тетраоксида осмия («SPI», США) в течение 1 часа. Обезвоживание образцов тканей проводили в спиртах возрастающей концентрации и завершали тремя сменами пропиленоксида. Для изготовления эпоксидных блоков использовали композицию Епон-812 («SPI-Pon™ 812 Epoxy Embedding Kit», США). Перед приготовлением ультратонких срезов предварительно проводили анализ полутонких срезов методом световой микроскопии. Изготовление ультратонких срезов толщиной 60-80 нм проводили ультрамикротомом УМТП-6 М («SELMИ», Украина) с последующим их размещением на опорных сетках (Mesh Regular Grid 200). Двойное контрастирование осуществляли 2% водным раствором уранилацетата в течение 15 мин при температуре +37°C с последующей импрегнацией раствором цитрата свинца по методу Рейнольдса в течение 30 мин [18]. Исследования

проводили с использованием трансмиссионного электронного микроскопа ПЭМ-100-01 («SELMИ», Украина) при напряжении ускорения 70-75кВ и первичных увеличениях от 4000 до 20000 по стандартной схеме. Подготовку материала для ультраструктурного анализа осуществляли согласно общепринятым стандартам [9,11].

Оценку ультраструктурных изменений проводили по анализу особенностей изменений нейронального, глиального и компонентов микроциркуляторного русла гиппокампа и коры больших полушарий головного мозга.

Результаты исследований и их обсуждение.

Анализ особенностей ультраструктуры фронтальной коры и гиппокампа крыс с моделированным аллергическим энцефаломиелитом позволил установить ряд изменений со стороны нейронального, глиального и компонентов микроциркуляторного русла этих образований головного мозга.

Установлено, что в условиях ЭАЭ цитоархитектоника фронтальной коры и гиппокампа в целом была сохранена. При этом в коре головного мозга регистрировался частичный апоптоз нейроцитов 2-го и 3-го слоев, диссеминированный перинейрональный отек мозгового вещества, нарушение структуры большинства аксо-соматических синапсов, демиелинизация нервных проводников с признаками фрагментации нейрофибрилл (**рис. 1**).

Показано, что в гиппокампе однократная подкожная инокуляция ЭГС в полном адьюванте Фрейнда приводит к развитию некробиотических изменений нейронов с нарушением структуры митохондрий (увеличение размеров, фрагментация наружной мембраны, разрушение крист), нарушение нейрофиламентной организации миелиновых нервных волокон, изменениям перичитов стенок венул, формированию периваскулярного отека (**рис. 2**).

Установлено, что курсовое применение цитиколина на фоне базисной гормональной терапии способствовало сохранению общей цитоархитектоники фронтальной коры. Для нейронов было характерно присутствие в них шарообразной формы ядра, заполненного почти однородными массами эухроматина и умеренным количеством конденсированного хроматина. Цитоплазма нейронов – умеренной электронной плотности, с мелкозернистой гиалоплазмой, умеренным количеством рибосом и сниженным количеством полисом. Элементы гранулярного эндоплазматического ретикулаума без значительных изменений. Митохондрии небольшие по размеру, содержали умеренное количество крист. Митохондриальный матрикс с несколько повышенной электронной плотностью. Отмечалось повышенное содержание канальцев агранулярного эндоплазматического ретикулаума, единичных аутофаголизосом. Явления перинейронального отека и апоптотически измененных нейроцитов встречались в единичных случаях (**рис. 3**).

Олигодендрциты характеризовались высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Ядра овоидной формы заполнены однородными массами эухроматина, по периферии ограничивающимися кариотеккой. В электронно-прозрачной

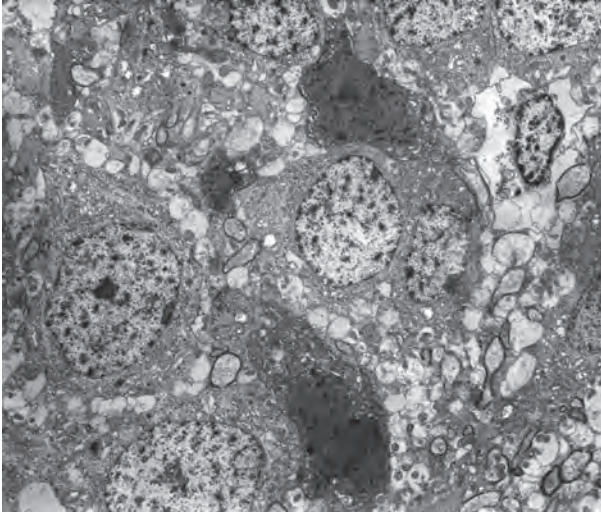


Рис. 1. Фронтальная кора крысы с ЭАЭ. Электронограмма. х4000.

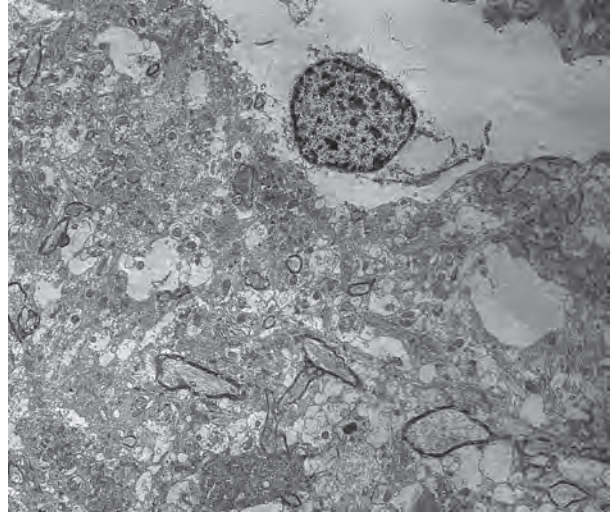


Рис. 2. Гиппокамп крысы с ЭАЭ. Электронограмма. х5000.

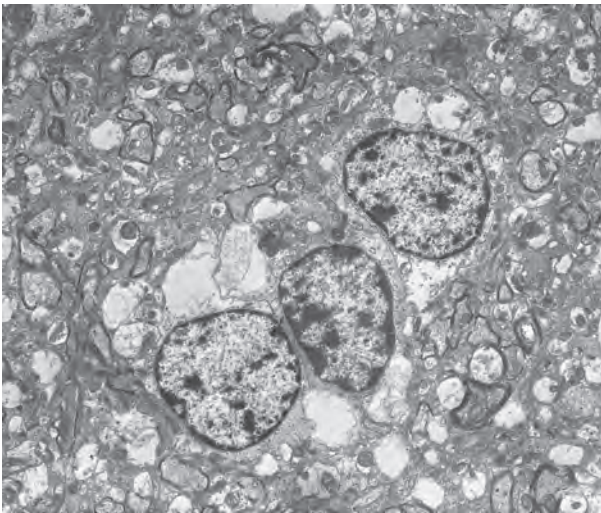


Рис. 3. Фронтальная кора крысы с ЭАЭ в условиях курсового введения цитиколина на фоне базовой гормонотерапии метилпреднизолоном. Электронограмма. х6000.

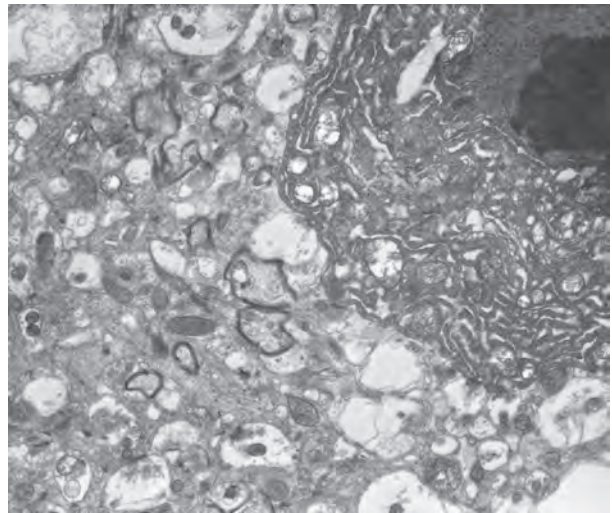


Рис. 4. Фронтальная кора крысы с ЭАЭ в условиях курсового введения цитиколина на фоне базовой гормонотерапии метилпреднизолоном. Электронограмма. х10000.

цитоплазме клеток обнаруживалось значительное количество рибосом, полисом, митохондрий. Плазматическая мембрана указанных олигодендроцитов в некоторых участках разрыхлена. Астроциты встречались в повышенном количестве, часть из них имела нарушенные внутриклеточные органеллы. Степень отечности цитоплазмы значительно ниже, чем в группе с ЭАЭ. Клеточные скопления астроцитов с микроглиоцитами единичны. Функциональная активность микроглиальных клеток на умеренном уровне.

Миелинизированные волокна вблизи нейронов имели расширенный диаметр, в их аксоплазме выявлялись значительной длины митохондрии и нейрофиламенты. Завитки мезаксона миелинизированных волокон на большинстве участков разрыхлены, но сохраняли свою структурную целостность и параллельную взаимную ориентацию.

Цитоплазма эндотелиоцитов имела типичное строение, однако встречались разрыхленные участки люминальной и базальной зон плазматической мембраны. Ядра эндотелиальных клеток увеличены, наполнены умеренным количеством гетерохроматина. Вокруг артериол и венул наблюдаются незначительные участки периваскулярного отека и смешанной лимфоцитарно-гистиоцитарной инфильтрации (**рис. 4**).

Показано, что в гиппокампе при курсовом применении цитиколина на фоне базисной гормональной терапии степень диффузных нарушений нейроцитов по сравнению с группой ЭАЭ была существенно снижена. Помимо единичных нейроцитов с признаками некробиотических изменений и большого количества нейроцитов с признаками относительной адаптации, встречались единичные фигуры апоптоза нейронов, в основном, в начальных стадиях

апоптотических процессов, развивающихся по митохондриальному типу. Митохондрии имели участки дефрагментации наружных мембран, частично разрушенные кристы, неравномерную электронную плотность матрикса. Явления хроматолиза, набухание и вакуолизация цистерн пластинчатого аппарата и эндоплазматического ретикула не выражены. Степень перинейронального отека незначительна.

Отростки и тела олигодендроцитов и астроцитов преимущественно средней электронной плотности. Межклеточные пространства между ними заполнены низкой электронной плотности основным веществом интерстиция. В расширенных отростках астроцитов, как и в цитоплазме их тел, обнаруживались скопления пучков филаментов и митохондрий. Между отдельными немиелинизированными отростками аксонов присутствовали различной формы синапсы, но их частота обнаружения относительно невысока.

Некоторые миелинизированные волокна имели расширенный диаметр, в их аксоплазме обнаруживались развитые митохондрии и нейрофиламенты. Завитки мезаксона в некоторых участках разрыхлены, но сохраняют свою структурную целостность и параллельную взаимную ориентацию. Значительное количество миелиновых волокон имели хорошо развитую аксоплазму и четко организованную оболочку. Восстановление асимметрично распределенной электронной плотности в послойной структуре миелина указывало на повышение изоляции аксона и создание условий для адекватного проведения импульса. Единичные миелиновые волокна с большим диаметром имели миелиновую оболочку с локальными разрыхлениями завитков мезаксона, иногда с наличием небольших коагулятов. Источенные и деформированные осевые цилиндры встречались гораздо реже по сравнению с группой ЭАЭ (рис. 5).

Таким образом, однократная подкожная инокуляция энцефалитогенной смеси (ЭГС) в полном адьюванте Фрейнда приводит к развитию мультифокальной демиелинизации и аксональной дегенерации в гиппокампе и фронтальной коре экспериментальных животных, что согласуется с данными изучения маркеров программируемой клеточной гибели у больных рассеянным склерозом [5,8].

Вероятно, положительная динамика изменений ультраструктурной организации фронтальной коры и гиппокампа грызунов с экспериментальным эквивалентом рассеянного склероза под влиянием метилпреднизолон 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 [19].

Вместе с тем, цитиколин, вводимый на фоне базовой гормональной терапии, принимает участие в биосинтезе мембранных фосфолипидов нейронов. Фосфолипиды формируют структурно-функцио-

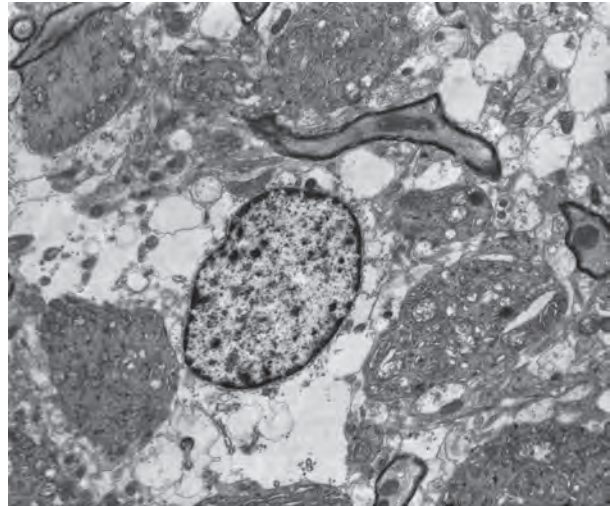


Рис. 5. Гиппокамп крысы с ЭАЭ в условиях курсового введения цитиколина на фоне базовой гормонотерапии метилпреднизолоном. Электронограмма. х8000.

нальную основу нейрональных мембран, обеспечивающих 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 цитохромсидаз и торможения глутамат-индуцированного апоптоза [17].

Полученные данные коррелируют с результатами ранее проведенного нами морфометрического анализа нейроцитов гиппокампа и фронтальной коры экспериментальных животных с индуцированным ЭАЭ в условиях нейропротективной терапии цитиколином на фоне введения метилпреднизолон.

Выводы

1. Инокуляция энцефалитогенной смеси индуцирует развитие ЭАЭ, характеризующегося тяжелым и длительным течением, развитием мультифокальной демиелинизации и аксональной дегенерации в гиппокампе и фронтальной коре экспериментальных животных;

2. Курсовое применение цитиколина при ЭАЭ в условиях базовой гормональной терапии значительно уменьшает степень диффузных нарушений нейроцитов гиппокампа и фронтальной коры, способствует восстановлению асимметрично распределенной электронной плотности в послойной структуре миелина, что указывает на повышение изоляции аксона и создает условия для адекватного проведения импульса.

Перспективы дальнейших исследований связаны с оценкой влияния мелоксикама и габапентина, применяемых на фоне базовой гормональной терапии, на индуцированные экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом процессы демиелинизации и аксональной дегенерации в коре головного мозга и гиппокампе.

Литература

1. Васильовский 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.
2. Винничук С.М. Рассеянный склероз / С.М. Винничук, О.А. Мяловицкая. – Киев: Комполис, 2001. – 56 с.
3. Дзяк Л.А. Рассеянный склероз: актуальные вопросы эпидемиологии и этиопатогенеза / Л.А. Дзяк // НейроNews. Психоневрология и нейропсихиатрия. – 2013. – № 4. – С. 27-34.
4. Евтушенко С.К. Современные подходы к лечению рассеянного склероза (II сообщение) / С.К. Евтушенко, И.Н. Деревянко // Международный неврологический журнал. – 2006. – № 2 (6). – С. 70-85.
5. Ельчанинова С.А. Прогностические нейробиохимические маркеры течения рассеянного склероза / С.А. Ельчанинова, И.В. Смагина // Неврологический журнал. – 2015. – Т. 20. № 2. – С. 27-31.
6. Нефьодов О.О. Моделивання 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.
7. Одинак М.М. Нейропротекция при рассеянном склерозе / М.М. Одинак, Г.Н. Бисага // Нейроиммунология. – 2005. – Т. 3, № 2. – С. 105-106.
8. Пирадов М.А. Аутоиммунные заболевания нервной системы: состояние проблемы и перспективы / М.А. Пирадов, Н.А. Супонева // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2015. – Т. 70. № 2. – С. 183-187.
9. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 542 с.
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. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. – М.: Мир, 1975. – 324 с.
12. Antel J. Multiple sclerosis in: Neuroglia / J. Antel, D. Arnold. – New York: Oxford Univ. Publ., 2005. – P. 489-500.
13. Brett R. Evidence of free radical damage in the central nervous system of guinea-pigs at the prolonged acute and early relapse stages of chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis / R. Brett, M.G. Rumsby // Neurochem. Int. – 1993. – Vol.23, № 1. – P. 35-44.
14. Galboiz Y. Immunological indicators of disease activity and prognosis in multiple sclerosis / Y. Galboiz, A. Miller // Current Opin. Neurol. – 2002. – Vol. 15, № 3. – P. 233-237.
15. Kieseier B.C. Matrix metalloproteinases in inflammatory demyelination: targets for treatment / B.C. Kieseier, T. Seifert, G. Giovannoni [et al.] // Neurology. – 1999. – Vol. 53, № 1. – P. 20-25.
16. 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. – P. 199-203.
17. 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.
18. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S. Reynolds // J. Cell Biol. – 1963. – Vol. 17. – P. 208-212.
19. 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.
20. Springer T.A. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm / T. A. Springer // Cell. – 1994. – Vol. 76, № 2. – P. 301-314.
21. Xiao B.-G. Antigen-specific T cells in autoimmune diseases with a focus on multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis / B.-G. Xiao, H. Link // Cell. Mol. Life Sci. – 1999. – Vol. 56, № 1/2. – P. 5-21.

УДК 615.214:616.831:611.813:616 – 091:616.832 – 004.2 – 092.9

ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТИКОЛІНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ЗМІН ЦНС, ІНДУКОВАНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТОМ

Нефьодов О. О., Мамчур В. Й.

Резюме. Показано, що перебіг ЕАЕ супроводжується формуванням вогнищ демієлінізації та аксональної дегенерації, викликаючи апоптоз нейроцитів кори головного мозку та її дисемінований перинейрональний набряк, порушення структури більшості аксо-соматичних синапсів, демієлінізацію нервових провідників з ознаками фрагментації нейрофібрил. При цьому в нейроцитах гіпокампу рееструються ознаки некробіотичних змін з порушенням структури мітохондрій та відсутність характерної нейрофіламентної організації мієлінових нервових волокон.

Встановлено, що курсове застосування цитиколіну при ЕАЕ за умов базової гормональної терапії значно зменшує ступінь дифузних порушень нейроцитів гіпокампу та фронтальної кори, сприяє відновленню пошарової структури мієліну, що створює передумови для адекватного проведення нервового імпульсу.

Ключові слова: експериментальний алергічний енцефаломієліт, цитиколін, ультраструктурні зміни.

УДК 615.214:616.831:611.813:616 – 091:616.832 – 004.2 – 092.9

ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТИКОЛИНА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЦНС, ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТОМ

Нефедов А. А., Мамчур В. И.

Резюме. Показано, что течение ЭАЭ сопровождается формированием очагов демиелинизации и аксональной дегенерации, вызывая апоптоз нейроцитов коры головного мозга и ее диссеминированный перинейрональный отек, нарушение структуры большинства аксо-соматических синапсов, демиелинизацию нервных проводников с признаками фрагментации нейрофибрилл. При этом в нейроцитах гиппокампа ре-

гистрируются признаки некробиотических изменений с нарушением структуры митохондрий и отсутствие характерной нейрофиламентной организации миелиновых нервных волокон.

Установлено, что курсовое применение цитиколина при ЭАЭ в условиях базовой гормональной терапии значительно уменьшает степень диффузных нарушений нейроцитов гиппокампа и фронтальной коры, способствует восстановлению послойной структуры миелина, что создает предпосылки для адекватного проведения нервного импульса.

Ключевые слова: экспериментальный аллергический энцефаломиелит, цитиколин, ультраструктурные изменения.

UDC 615.214:616.831:611.813:616 – 091:616.832 – 004.2 – 092.9

THE ADMINISTRATION OF CITICOLINE FOR THE CORRECTION OF THE ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM INDUCED EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS

Nefedov A. A., Mamchur V. I.

Abstract. Multiple sclerosis (MS) is a progressive autoimmune disease of the central nervous system, in which the infiltration of brain tissue by T-cells passing through the blood-brain barrier, is a key moment in the appearance of the characteristic inflammation and the development of demyelination.

Synthesized by T-cells pro-inflammatory cytokines trigger the activation of microglial cells, macrophages, and astrocytes. In response microglial cells secrete inflammatory cytokines and increased amounts of free radicals, which contributes to cell death, lysis of membranes and intense damage to myelin and oligodendrocytes.

Therefore, to improve treatment of multiple sclerosis appropriate use of components neuroprotective-antioxidant complex, inhibiting the progression of the disease, deceleration the rate of apoptosis of neurons and oligodendrocytes, as well as a decrease in the intensity of myelin damage by free radicals, antibodies and inflammatory cytokines.

EAE was induced by single subcutaneous inoculation encephalitogenic mixture in full adjuvante of Freynd at the rate of 100 mg homogenate of homologous spinal cord, 0.2 ml puff (the content of killed mycobacteria 5 mg/ml) and 0.2 ml of physiological solution on the animal. Encephalitogenic mixture were injected into the tail under light ether anesthesia in a volume of 0.4 ml.

Solu-medrol was injected to animals rate of 3.4 mg/kg drip into a vein in a volume of saline solution, constituting 1/10 of the volume of circulating of the circulating blood volume within a week. Additionally, at the background of underlying hormonal therapy, intragastrically once a day was administered citicoline (500 mg/kg) from the second to the 20th day after the induction of EAE.

The study was carried out using a transmission electron microscope with acceleration voltage of 70-75kv and primary magnifications of 4000 to 20000 in a default scheme. Evaluation of ultrastructural changes was performed by analysis of features of changing neuronal, and glial components of the microvasculature of the hippocampus and cerebral cortex of the brain.

It is shown that during EAE is accompanied by formation of foci of demyelination and axonal degeneration, causing the apoptosis of neurocytes of cerebral cortex and disseminated perineuronal edema, disruption of the structure of most axo-somatic synapses, the demyelination of nerve conductors with signs of fragmentation of neurofibril. In the neurocytes of a hippocampus recorded signs of necrobiotic changes with the altered structure of mitochondria and the absence of characteristic neurofilament organization of the myelin of nerve fibers.

Found that course the use of citicoline during EAE in the conditions underlying hormonal therapy significantly reduces the degree of diffuse violations of neurocytes of a hippocampus and frontal cortex, contributes to the restoration of the lamellar structure of myelin, which creates preconditions for adequate conduction of nerve impulses.

Likely, positive dynamics of changes in the ultrastructural organization of the frontal cortex and hippocampus of rodents with experimental equivalent of multiple sclerosis under the influence of methylprednisolone due to the normalization of disturbances in blood-brain barrier that develop during EAE by inhibiting inflammatory cytokines and accelerate the apoptosis of immune cells. Because oligodendrocytes have corticosteroid receptors corticosteroids can also contribute to the separation of oligodendrocytes and remyelination of axons. While citicoline ensures the integrity of the cytoplasmic and mitochondrial membranes of neuronal, primarily by attenuation of the activity of phospholipase A2, activation of neuronal mitochondrial cytochromoxidase and inhibition glutamate-induced apoptosis.

Keywords: experimental allergic encephalomyelitis, citicoline, ultrastructural changes.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 22.03.2016 року