

О. В. Макаренко, Т. М. Криворучко

Експериментальна оцінка антипаркінсонічної активності цитиколіну сумісно з амантадином

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: паркінсонічний синдром, амантадин, цитиколін, каталепсія, тремор

Хвороба Паркінсона (ХП) є одним з найрозповсюдженіших нейродегенеративних захворювань, частота реєстрації якого росте зі збільшенням віку населення. Окрім класичних рухових порушень, ХП проявляється широким спектром психічних розладів з порушенням когнітивних функцій. Когнітивні розлади виявляють не менше ніж у 96 % пацієнтів з ХП. Когнітивні порушення посилюються по мірі прогресування захворювання, а на пізній стадії в 80 % пацієнтів досягають ступеня деменції [1]. Збільшення тривалості життя пацієнтів з ХП, досягнуте завдяки успіхам у терапії моторних розладів, призводить до збільшення числа пацієнтів, які страждають на когнітивні розлади. Деменція та пов'язані з нею поведінкові порушення на пізній стадії захворювання затруднюють догляд за хворим, тому раннє виявлення та лікування когнітивних порушень при ХП мають велике значення [2].

Безпосередньо для корекції когнітивних порушень нині використовують лікарські засоби, які впливають на дофамінергічну, норадренергічну, холінергічну та глутаматергічну передачу. Серед засобів нейропротекторної дії при когнітивному дефіциті частіше лікарі неврологи призначають пірацетам, фенібут, гліцин, аміналон, актовегін, нейромідін, церебролізин та цитиколін. Нашу увагу привернув цитиколін, що має спрямовану дію завдяки взаємодії з рецептором-мішенню. Сьогодні визначені основні механізми реалізації нейропротекторного ефекту цитиколіну, насамперед, це пряма репарація нейрональних мембран. Так, екзогенно введений цитиколін посилює швидку регенерацію поверхні пошкодженої клітини та

мітохондріальних мембран, що сприяє підтримці клітинної цілісності. Цитиколін знижує вміст фосфоліпідів, що призупиняє апоптичну та некротичну загибель клітин [3].

З іншого боку, серед засобів вибору лікування ХП на початковій стадії є засоби групи амантадину. Амантадин проявляє м'яку антихолінергічну дію, пригнічує зворотний захват дофаміну та характеризується амфетаміноподібним ефектом, що сприяє вивільненню дофаміна з пресинаптичних терміналей. Амантадин достатньо ефективний при ригідних та акінетичних формах ХП, менше впливає на прояви тремору [4]. Проте можливість використання цитиколіну за умов ХП з урахуванням базової терапії амантадином раніше не вивчалась, також не визначений вплив цитиколіну на прояви ХП.

Мета дослідження – експериментальна оцінка можливої антипаркінсонічної дії цитиколіну за умов експериментальних еквівалентів паркінсонізму (акінетико-ригідної та треморної форми) на тлі антипаркінсонічної корекції амантадином.

Матеріали та методи. Досліди проведені на 60 білих безпородних щурах масою 180–230 г та на 60 білих мишах масою 21–23 г, які методом випадкової вибірки поділені на 6 груп ($n = 10$): група контролю (0,9 % р-н NaCl) (I) та 5 дослідних. Нами вивчені прояви каталепсії (пригнічення дофамінергічної передачі, еквівалентній стану гіпокінезії та ригідності) та тремору (активація ацетилхолінергічної передачі, що відповідає паркінсонічному тремору) за умов використання амантадину 50 мг/кг (А) (II), цитиколіну 100 мг/кг (Ц100) (III), цитиколіну 500 мг/кг (Ц500) (IV) та сумісного використання А + Ц100 (V) і А+Ц500 (VI) [5, 6]. Каталепсію в щурів викликали введенням трифтазину

(2 мг/кг). Препарати порівняння та досліджувані речовини вводили перорально разом з трифтазином. Антагонізм з нейролептиком оцінювали за здатністю досліджуваних речовин зменшувати тривалість каталептогенного стану та за кількістю тварин з каталепсією в групі. Тривалість каталепсії реєстрували через 30, 60, 120 хв. Тривалість каталепсії вимірювали в секундах (за часом завмирання тварин у незручній позі на сходинках), її інтенсивність оцінювали у балах за шкалою Morgurgo [7].

Тварин усаджували на задні кінцівки, дотримуючись наступних вимог. Щур опирається на передню кінцівку, яка знаходиться на сходинці, другу передню кінцівку повинен утримати без опори. Якщо щур зберігає цю позу протягом 10 с при висоті сходинки 3 см, то зараховують 1 бал, а при висоті сходинки 10 см – 2 бали. Праву та ліву лапки по чергово поміщають на нижню (3 см) та верхню (10 см) сходинки. Тому на піку розвитку каталепсії одна тварина може отримати максимально 6 балів. Спроба усадити тварину у вимушену позу не повинна перевищувати 1 хв; при цьому ступінь каталепсії оцінюють у балах у всіх тварин групи.

Холінергічна модель паркінсонічного тремору відтворюється різними способами первинної активації холінергічних нейронів хвостатого ядра (інтракаудальне введення АХ з прозеріном), або системним введенням ареколіну чи оксотреморину. Антитреморну дію досліджуваних засобів та їхніх комбінацій оцінювали за бальною шкалою: 0 – відсутність тремору, 1 – локальний дрібноамплітудний тремор голови та кінцівок; 2 – локальний середньоамплітудний тремор; 3 – генералізований тремор. Тремор викликали в мишей підшкірним введенням ареколіну (25 мг/кг), за півгодини вводили досліджувані засоби та їхні комбінації [8].

Усі отримані дані оброблено загальноприйнятими в медико-біологічних дослідженнях методами статистичного аналізу з використанням стандартних пакетів комп'ютерних програм. Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (M), їхніх похибок ($\pm m$). Встановлення достовір-

ності міжгрупових відмінностей показників проводили за допомогою параметричного t -критерію Стьюдента, критерію рангових сум Вілкоксона (Wilcoxon Rank-Sum test), критерію Манна-Уїтні та методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними при $p \leq 0,05$. Перед застосуванням параметричних критеріїв проводили перевірку гіпотези щодо нормального закону розподілу випадкових величин [9].

Результати та їх обговорення. Аналіз показників каталептогенного стану в щурів протягом 120 хв експерименту, результати якого представлені в таблиці 1, свідчить про те, що на фоні введення А, Ц100 і Ц500 та їхніх комбінацій прояви каталепсії зберігалися в усіх досліджуваних групах. Заслужують на увагу зміни проявів ригідності та стану каталепсії під впливом Ц та його комбінацій з амантадином: так, під впливом А+Ц500 прояви каталепсії через 30 хв не реєстрували взагалі, а через 120 хв спостерігали лише в 40 % тварин цієї дослідної групи, причому вони характеризувалися низьким показником (0,7 бала при максимально можливих 6 балах).

Зокрема, у щурів групи ІІ наприкінці експерименту прояви олігокінезії спостерігали також у 40 % тварин, проте оціночний критерій дорівнював 1,8 бала. Позитивну динаміку реєстрували на тлі використання Ц100 та Ц500: каталепсію на 90 хв експерименту спостерігали в 90 % та 70 % тварин з оціночним критерієм у 2,8 та 2,6 бала відповідно для зазначених груп. Для порівняння: у групі контролю на цей час каталепсію всіх щурів оцінювали 5 балами.

Таким чином, нами встановлена позитивна антикаталептогенна дія комбінацій амантадину з цитиколіном у дозі 500 мг/кг за умов пригнічення дофамінергічної передачі трифтазином протягом 120 хв.

Відомо, що тремор спокою – тремтливий гіперкінез, виникає в той час, коли м'язи розслаблені та не здійснюються активні рухи, у стані спокою м'язи піддаються впливу лише силі гравітації. Тремор спокою посилюється при збентеженні та мисливій напрузі. Цей вид

Показники стану каталепсії в щурів за умов уведення амантадину, цитиколіну та їхнього сумісного застосування

Експериментальна група	Показник	Час спостереження, хв			
		30	60	90	120
Контроль (каталепсія = трифтазин)	% тварин з каталепсією Інтенсивність каталепсії, бали	60 1,4	100 3,6	100 5,0	100 5,4
Каталепсія + А (50 мг/кг)	% тварин з каталепсією Інтенсивність каталепсії, бали	30 0,5	40 0,8	70 1,6	40 1,8
Каталепсія + Ц100 (100 мг/кг)	% тварин з каталепсією Інтенсивність каталепсії, бали	50 0,6	70 1,4	90 2,8	80 2,4
Каталепсія + Ц500 (500 мг/кг)	% тварин з каталепсією Інтенсивність каталепсії, бали	30 0,9	60 2,1	70 2,6	50 1,8
Каталепсія + А (50 мг/кг) + Ц100 (100 мг/кг)	% тварин з каталепсією Інтенсивність каталепсії, бали	40 0,4	50 1,1	60 1,4	50 1,0
Каталепсія + А (50 мг/кг) + Ц500 (500 мг/кг)	% тварин з каталепсією Інтенсивність каталепсії, бали	– –	40 0,5	50 1,0	40 0,7

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

У всіх дослідних групах за умов ареколінового тремору на фоні введення амантадину та А сумісно з цитиколіном тремор спостерігали в 100 % тварин. При цьому дещо змінювалася тривалість латентного періоду тремору при введенні амантадину та А сумісно з Ц100 та Ц500: цей показник був у 2,5

разу більшим порівняно з показниками контрольної групи (табл. 2).

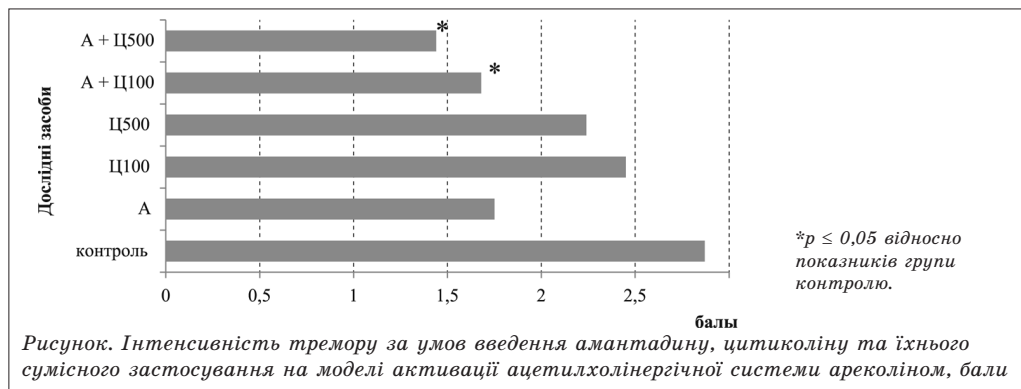
Оцінкою феноменології тремору встановлено, що в групі контролю його інтенсивність була максимально вираженою – 2,9 бала (рисунок). Прояви його з оцінкою в 2,3–2,5 бала спостерігали на фоні отримання Ц у дозі 500 та 100 мг/кг відповідно. Проте на фоні введення комбінацій А+Ц100 та А+Ц500 інтенсивність тремору була

Таблиця 2

Показники антитреморної дії в мишей за умов введення амантадину, цитиколіну та їхнього сумісного застосування на моделі активації ацетилхолінергічної системи ареколіном

№	Дослідна група	Тривалість латентного періоду, с	Тривалість продовження тремору, хв
1	Контроль (тремор = ареколін, 25 мг/кг, п/к)	48,6 ± 12,9	39,30 ± 7,30
2	Тремор + А (50 мг/кг)	121,8 ± 7,6*	18,70 ± 1,96*
3	Тремор + Ц (100 мг/кг)	87,1 ± 9,9	30,30 ± 5,10
4	Тремор + Ц (500 мг/кг)	61,0 ± 10,3	28,00 ± 5,44
5	Тремор + А (50 мг/кг) + Ц (100 мг/кг)	122,8 ± 9,8*	25,60 ± 5,01*
6	Тремор + А (50 мг/кг) + Ц (500 мг/кг)	132,7 ± 8,9*	18,30 ± 2,90*

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно показників групи контролю.



меншою в 1,7 разу ($p \leq 0,05$) та в 1,9 разу ($P \leq 0,05$) відповідно порівняно з показниками групи контролю.

Отже, аналіз змін антитреморної дії за умов активації холінергічної системи на фоні терапії амантадином дозволив встановити, що цитиколін у дозі 100 мг/кг та 500 мг/кг сприяє оптимізації антитреморної дії амантадину, що виражається в збільшенні латентного періоду тремору, зменшенні його тривалості та ослабленні інтенсивності майже в 2 рази.

Висновок

На підставі одержаних даних щодо антипаркінсонічної дії цитиколіну в дозі 100 мг/кг та 500 мг/кг на тлі базової терапії амантадином за умов пригнічення дофамінергічної передачі (катаlepsія) та активації холінергічної передачі (ареколіновий тремор) можна зробити висновок, що сумісне використання амантадину та цитиколіну є ефективним, а саме спостерігається зниження проявів експериментального паркінсонізму.

1. Sydney multicenter study of Parkinson's disease / Hely M. A., Morris J. G., Reid W. G. [et al.] // *Mov. Disord.* – 2008. – V. 23. – P. 837–844.
2. Левин О. С. Подходы к терапии когнитивных нарушений при болезни Паркинсона / Левин О. С., Батукаева Л. А. // *Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Руководство для врачей*; под ред. С. Н. Иллариошкина, Н. Н. Яхно. – М., 2008. – С. 170–173.
3. Saver J. L. Citicoline: update on a promising and widely available agent for neuroprotection and neurorepair / Saver J. L. // *Rev Neurol Dis.* – 2008. – V. 5 (4) – P. 167–177.
4. Карабань И. Н. Блокаторы глутаматных рецепторов (Неомидантан) в патогенетической терапии болезни Паркинсона и других неврологических заболеваний. Методические рекомендации / И. Н. Карабань, Н. В. Карабань, Н. В. Карасевич. – К., 2004. – 24 с.
5. Saver J. L. Citicoline: update on a promising and widely available agent for neuroprotection and neurorepair / Saver J. L. // *Rev. Neurol. Dis.* – 2008. – V. 5. – P. 167–177.
6. Макаренко О. В. Оценка антиноцицептивной активности комбинаций амантадина с ненаркотическими анальгетиками в условиях нарушения нейросинаптической передачи по типу катаlepsии и тремора / Макаренко О. В., Мамчур В. Й. // *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. – 2009. – №1 (15). – С. 74–78.
7. Мамчур В. Й. Алгоритм доклінічної оцінки (загальна фармакологія, специфічна активність) антипаркінсонічних засобів. Методичні рекомендації / Мамчур В. Й., Макаренко О. В., Дронов С. М. – К., 2009. – 21 с.
8. Макаренко О. В. Сучасний погляд на доклінічне вивчення антипаркінсонічних засобів / Макаренко О. В., Мамчур В. Й. // *Ліки*. – 2007. – № 3–4. – С. 3–11.
9. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабиц П. Н. – К. : «Морион», 2001. – 408 с.

О. В. Макаренко, Т. М. Криворучко

Експериментальна оцінка антипаркінсонічної активності цитиколіну сумісно з амантадином

Хворобу Паркінсона (ХП) традиційно розглядають як захворювання, що вражає моторну сферу. Але крім моторних проявів у клінічній картині захворювання присутні й немоторні прояви захворювання, серед яких найчастіше зустрічається деменція. Мета дослідження – експериментальна оцінка можливої антипаркінсонічної дії цитиколіну за умов експериментальних еквівалентів паркінсонізму (акінетико-ригідної та треморної форми) на тлі антипаркінсонічної корекції амантадином. Методи дослідження: модель катаlepsії (пригнічення дофамінергічної передачі, еквівалентної стану гіпокінезії та ригідності) та модель ареколінового тремору (активація ацетилхолінергічної передачі, що відповідає паркінсонічному тремору) на фоні введення амантадину (50 мг/кг), цитиколіну (100 мг/кг та 500 мг/кг) та їхнього сумісного застосування.

Результатами дослідження встановлена позитивна динаміка сумісного використання амантадину сумісно з цитиколіном у дозі 100 мг/кг та 500 мг/кг, що визначилося низьким процентом тварин з проявами катаlepsії (40–60 %) з оціночним критерієм у 0,5–1,4 бала при максимально можливих 6 балах. Схожі результати отримані за умов активації холінергічної системи (ареколіновий тремор): цитиколін у дозі 100 мг/кг та 500 мг/кг сприяє оптимізації антитреморної дії амантадину, що виражається в збільшенні латентного періоду тремору, зменшенні його тривалості та ослабленні інтенсивності майже в 2 рази порівняно з показниками контрольної групи.

Таким чином, досліджені комбінації амантадину сумісно з цитиколіном у дозі 100 мг/кг та 500 мг/кг є перспективними щодо вивчення впливу на дементні порушення за умов експериментальних еквівалентів паркінсонізму з урахуванням базової антипаркінсонічної терапії амантадином, що й стане метою подальших наукових досліджень.

Ключові слова: паркінсонічний синдром, амантадин, цитиколін, катаlepsія, тремор

О. В. Макаренко, Т. Н. Криворучко

Экспериментальная оценка антипаркинсонической активности цитиколина совместно с амантадином

Болезнь Паркинсона (БП) традиционно рассматривают как заболевание, которое поражает двигательную функцию человека. Но помимо двигательных проявлений в клинической картине заболевания присутствуют и немоторные проявления заболевания, среди которых чаще встречается деменция. *Цель исследования* – экспериментальная оценка антипаркинсонического действия цитиколина в условиях экспериментальных эквивалентов паркинсонизма (акинетико-ригидная и треморная формы) на фоне антипаркинсонической коррекции амантадином. Методы исследования: модель катаlepsии (угнетение дофаминергической передачи, эквивалент состояния гипокинезии и ригидности) и модель ареколинового тремора (активация ацетилхолинергической передачи, которая соответствует паркинсоническому тремору) на фоне введения амантадина (50 мг/кг), цитиколина (100 мг/кг и 500 мг/кг) и их совместного использования.

Результатами исследования установлена позитивная динамика совместного использования амантадина с цитиколіном в дозе 100 мг/кг и 500 мг/кг, что подтверждается низким процентом животных с проявлениями катаlepsии (40–60 %) с оціночним критерієм в 0,5–1,4 балла при максимально возможных 6 баллах. Похожие результаты получены в условиях активации холинергической системы (ареколиновий тремор): цитиколін в дозі 100 мг/кг і 500 мг/кг сприяв оптимізації антитреморного действия амантадина, что зарегистрировалось в увеличенном латентном периоде тремора, уменьшении его длительности и ослаблении интенсивности почти в 2 раза по сравнению с показателями контрольної групи.

Таким образом, исследуемые комбинации амантадина совместно с цитиколіном в дозе 100 мг/кг и 500 мг/кг являются перспективными в плане изучения их влияния на дементные нарушения в условиях паркинсонического синдрома с учетом базовой антипаркинсонической терапии амантадином, что и станет целью дальнейших научных исследований.

Ключевые слова: паркинсонический синдром, амантадин, цитиколін, катаlepsія, тремор

O. V. Makarenko, T. N. Kryvoruchko

Experimental evaluation of antiparkinsonian activity of Citicoline combined with Amantadine

Parkinson's disease is traditionally viewed as a disease affects the humans' locomotor activity. Besides motor manifestations in the clinical picture of the disease are present non-motor manifestations such as dementia. *The purpose of this study* was experimental evaluation of the possible antiparkinsonian action of Citicoline in experimental models of Parkinson's disease (akinetic-rigid and tremulous forms) in the background antiparkinsonian correction by amantadine. Methods: catalepsy model (inhibition of dopaminergic transmission that equivalent hypokinesia and rigidity) and model of tremor by arekolin (activation cholinergic transmission that corresponds parkinsonian tremor) in the background of Amantadine administration (50 mg/kg), Citicoline (100 mg/kg and 500 mg/kg) and their combined introduction.

The research results show a positive dynamic after Amantadine administration combined with Citicoline at a dose of 100 mg/kg and 500 mg/kg, which is determined by the low percentage of animals with symptoms of catalepsy (40–60 %) with the evaluation criteria in the 0,5–1,4 points at maximum possible 6 points. Similar results were obtained under activation of the cholinergic system (arekolins tremor). Citicoline at a dose of 100 mg/kg and 500 mg/kg promoted to optimization of antitremors action of Amantadine. That is registered in increasing of the latent period of tremor, reducing its duration and intensity attenuation is almost 2 times comparison with indicators of the control group.

Thus, combination of Amantadine with Citicoline at a dose of 100 mg/kg and 500 mg/kg are promising in searching of its influence on dementia in Parkinson's syndrome and we will continue our study.

Key words: Parkinson's syndrome, amantadine, citicoline, catalepsy, tremor

Надійшла: 26.11.2014 р.

Контактна особа: Макаренко Ольга Володимирівна, доктор медичних наук, професор, кафедра соціальної медицини, організації та управління охороною здоров'я, ДЗ «Дніпропетровська медична академія», буд. 9, вул. Дзержинського, м. Дніпропетровськ, 49044.
Тел.: + 38 056 713 52 66. Електронна пошта: makarenko011@rambler.ru