

А. В. Демченко, І. Ф. Бєленічев

Стан глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи мозку білих щурів після корекції цитиколіном модельованої хронічної ішемії

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: хронічна ішемія мозку, тіол-дисульфідна система, глутатіон, нітротирозин, цитиколін

Сьогодні для науковців актуальним є вивчення молекулярно-біохімічних аспектів розвитку церебральної ішемії та розробка ефективної фармакологічної корекції при цій патології [1]. Церебральна ішемія призводить до утворення в тканинах мозку вільних радикалів, які включають ланцюгові реакції «пошкодження» та фрагментацію мембранних фосфоліпідів. Цитотоксичність активованих форм кисню проявляється індукцією процесів ліпопероксидації, інактивацією ферментів і пошкодженням мембранних білків клітин [2]. На цьому фоні активується антиоксидантний захист клітин, одним з компонентів якого є система глутатіону.

Глутатіон відіграє найважливішу роль у життєдіяльності клітин і організму в цілому, та є ключовим внутрішньоклітинним антиоксидантом [3]. Функціонування системи глутатіону впливає на реалізацію низки найважливіших фізіологічних процесів: детоксикацію та антиоксидантний захист; біохімічні перетворення вітамінів С, Е, ліпоевої кислоти й убіхінону; регуляцію тіол-дисульфідної рівноваги та синтез нуклеїнових кислот; збереження оптимального стану та функцій біологічних мембран; обмін ейкозаноїдів – простагландинів і лейкотрієнів. Глутатіон виступає й як резерв цистеїну в клітині; регулює синтез білків теплового шоку; бере участь у реалізації механізмів програмованої клітинної загибелі [3, 4].

Низкою попередніх досліджень підтверджено важливу роль глутатіону та

ферментів його метаболізму в захисті головного мозку від ішемічних ушкоджень [2].

Накопичений клініко-експериментальний матеріал дозволяє виділити систему глутатіону як компонент антиоксидантного захисту та фактор впливу на формування захисних пристосувальних реакцій організму, що включаються при церебральній ішемії [3, 5].

Система глутатіону представлена відновленим глутатіоном та ферментами його метаболізму – глутатіонредуктазою (ГР), глутатіонтрансферазою (ГТ) та глутатіонпероксидазою (ГПО) і важлива для життєдіяльності клітин та організму в цілому, забезпечуючи толерантність нейронів до ішемії [3, 4]. ГПО, входячи до складу антиоксидантної системи, відіграє значну роль у захисті клітин від вільно-радикального окиснення. Позитивний вплив ГПО при церебральній ішемії підтверджують дослідження з трансгенними мишами з гіперекспресією ГПО, у яких зростала стійкість до ішемії [5]. При інгібуванні глутатіонзалежних ферментів ГР і ГТ за умов церебральної ішемії відбувається окиснювальна модифікація низькомолекулярних тіолів, утворення гомоцистеїну і, як наслідок, порушення транспорту оксиду азоту з утворенням його цитотоксичних дериватів, які ще більше посилюють окиснення тіолів. Наявність у нейроні достатньо активної тіолової антиоксидантної системи, яка здатна регулювати транспорт оксиду азоту, забезпечує стійкість клітин до нітрозуючого стресу – найраннішого нейро-деструктивного механізму за умов ішемії [6].

Відомо, що глутатіон, окрім антиоксидантних властивостей, здатний регулювати процеси синаптичної пластич-

ності та інгібувати нейродегенерацію в щурів, опосередковано забезпечувати процеси сприйняття, інтеграції та формування короткотривалої пам'яті [7].

Одним з перспективних методів лікування ішемічних ушкоджень мозку є патогенетично обґрунтоване використання препаратів з антиоксидантними (для нормалізації енергетики клітин мозку) та нейрометаболічними (для корекції рецепторної функціональної активності) властивостями [1, 8].

Таким чином, пошук і розробка методів фармакологічної корекції порушень антиоксидантного статусу у разі церебральної ішемії з урахуванням метаболізму системи глутатіону є важливим і перспективним напрямом сучасної фармакології.

Серед сучасних нейропротекторів виділяють препарат, що активує холінергічну трансмісію – цитиколін. Цитиколін відомий також як цитидин-5'-дифосфохолін (ЦДФ-холін), являє собою мононуклеотид, що складається з рибози, цитозину, пірофосфату й холіну. Він є донором холіну при біосинтезі ацетилхоліну та збільшує його вивільнення з холінергічних нервових закінчень, що призводить до покращання уваги, навчання та пам'яті. Крім рецепторного, для цитиколіну характерний і метаболітотропний механізм ноотропної та нейропротективної дії, що пришвидчує регенерацію пошкодженої клітинної оболонки та мітохондріальних мембран, тим самим сприяє підтриманню клітинної цілісності та біоенергетичної ємності; знижує вміст фосфоліпаз, що запобігає апоптотичну та некротичну загибель нейроцитів; стабілізує ліпідні рафти, які несуть глутаматні транспортні білки, що прискорює видалення ексайтотоксичного нейромедіатора глутамату з синаптичної щілини; посилює синтез фосфоліпідів і репарацію нейронів; зменшує тяжкість апоптозу та дегенерації нейронів гіпокампу, а також покращує пам'ять у експериментальних тварин. У доклінічних дослідженнях показана ефективність цитиколіну в зменшенні вираженості ішемічного ураження головного мозку, тяжкості апоптозу та дегенерації нейронів гіпокампу, а

також у покращанні пам'яті експериментальних тварин [9,10].

Тому перспективним завданням сучасної фармакології є розробка методів терапевтичної корекції порушень антиоксидантного статусу нейрону при хронічній ішемії мозку (ХІМ) з урахуванням метаболізму глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи.

Мета дослідження – вивчення впливу цитиколіну на стан глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи тканини головного мозку та когнітивні функції білих щурів за умов модельованої ХІМ.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на білих щурах обох статей масою 180–200 г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс» (м. Київ). Тривалість карантину (акліматизаційного періоду) для всіх тварин склала 14 днів. Протягом карантину проводили щоденний огляд кожної тварини з оцінкою поведінки й загального стану. Тварини перебували в стандартних умовах віварію при вільному доступі до води та стандартного гранульованого корму. Усі експериментальні процедури здійснювали згідно з нормативом «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях».

Оскільки метою дослідження є оцінка активності антиоксидантних ферментів глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи за результатом дії нейропротектора цитиколіну (Цераксон, FerrerInternacional, S.A.) за умов церебральної ішемії, як модель експериментальної патології головного мозку, яка б відповідала клінічним ситуаціям при ХІМ, використовували незворотну двосторонню перев'язку загальних сонних артерій експериментальним тваринам з урахуванням видових анатомо-фізіологічних особливостей кровопостачання головного мозку білих щурів. При цьому спостерігали відповідний неврологічний дефіцит, когнітивні порушення, біохімічні зміни тканини головного мозку [11].

Експеримент проводили в операційній після кварцювання та обробки антисептиками за температури 19–20 °С. Шерсть у місці операції виголювали, операційне поле обробляли діамантовим

зеленим. Двосторонню перев'язку загальних сонних артерій виконували під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг), з використанням хірургічного доступу, виділенням сонних артерій, одночасного накладення на них шовкових лігатур. Псевдооперованим тваринам розрізали й ушивали шкіру. Враховуючи високу смертність після відтворення експериментальної моделі, оперували таку кількість тварин, щоб на 21 добу в кожній групі було до 15 тварин.

Нейропротективну активність цитиколіну оцінювали за активністю ферментів глутатіонового ланцюга кори головного мозку у відновний період після експериментального порушення мозкового кровообігу.

Тварин було розподілено на 3 експериментальні групи:

- 1) основна – тварини з ХІМ, які отримували цитиколін у дозі 250 мг/кг внутрішньоочеревино 1 раз на 1 добу [1], починаючи з першого дня, після перев'язки загальних сонних артерій, протягом 21 доби ($n = 15$);
- 2) контрольна – тварини з ХІМ, які отримували фізіологічний розчин – 2 мл/кг протягом 21 доби ($n = 15$);
- 3) псевдооперовані тварини ($n = 15$).

Тварин виводили з експерименту на 21 добу спостереження під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг).

Досліджували показники глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи: активність ГР, ГПО, ГТ, концентрацію відновленого глутатіону, відновлених SH-груп тіолів [11]. Активність досліджуваних ферментів та вміст тіолів розраховували на 1 г білка. Для біохімічних досліджень використовували гомогенат тканини головного мозку, який отримували на холоді. Тканину головного мозку гомогенізували в 0,25 М сахарозному буфері за допомогою гомогенізатора SilentCrusher S фірми Heidolph. Уміст білка визначали прямою спектрофотометрією при $\lambda = 280$ нм [12]. Також визначали концентрацію маркера нітрозуючого стресу – нітротирозину. Нітротирозин визначали в цитозольній фракції гомогенату кори головного мозку твердофазним імуносорбентним сендвідж-методом ELISA,

ELISAKit (Cat.№ НК 501-02) фірми HycultBiotech.

Наприкінці спостереження у відновному періоді після експериментального порушення мозкового кровообігу (на 20 добу) проводили навчання за тестом «Умовно рефлекторне пасивне уникнення» (УРПУ) [13]. Ця методика заснована на природженому норковому рефлексі щура – прагненні до обмеженого темного простору. Навчання умовному рефлексу проводили в двокамерній установці, що складається з двох відсіків – світлого та темного. Щура спочатку поміщали у світлий відсік хвостом до закритих дверцят, потім відкривали дверцята та тварина переходила в темний відсік (фіксували час переходу в темний відсік – латентний період 1), де тварина отримувала удар током та вибігала до світлого відсіку. Через 24 год проводили тестування виробленого досвіду. Для цього тварин поміщали в освітлений відсік при відкритих дверцятах і фіксували час переходу тварини в темний відсік (латентний період 2). Про ступінь запам'ятовування електрошоку тваринами судили за різницею латентних періодів переходу їх у темну камеру при виробленні рефлексу за тестом УРПУ і при тестуванні його збереження.

Результати дослідження оброблені з застосуванням статистичного пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., США, № AXXR712D833214FAN5). Статистичну обробку проводили із застосуванням U-критерія Мана-Уїтні. Результати наведено у вигляді медіани значень та 25–75 % міжквартильного інтервалу. Попарне порівняння показників двох зв'язаних вибірок проводили за допомогою парного непараметричного T-критерію Вілкоксона. Статистично значимою вважали різницю при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. За результатами проведеного дослідження встановлено, що експериментальна ХІМ у білих щурів призводить до зниження активності антиоксидантних ферментів глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи, умісту відновленого глутатіону та відновлених SH-груп (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Активність ферментів глутатионового ланцюга тіол-дисульфідної системи в корі головного мозку тварин з хронічною ішемією мозку (n = 15)

Показник	Група тварин		
	Основна (ішемія + цитиколін)	Контрольна (ішемія)	Псевдооперовані
Глутатіонредуктаза, мкмоль/(хв • г білка)	8,53 (5,64–9,87)*	4,29 (3,30–5,36)#	14,85 (11,54–18,88)
Глутатіопероксидаза, ммоль/(хв • г білка)	2,41 (1,72–3,72)*	1,26 (0,77–1,74)#	6,06 (4,38–8,01)
Глутатіонтрансфераза, мкмоль/(хв • г білка)	8,05 (6,48–9,55)*	5,64 (4,39–6,44)#	10,91 (10,06–13,61)

Примітка. Тут і в табл. 2: *p < 0,001 відносно контрольної групи тварин,

#p < 0,0001 відносно групи псевдооперованих тварин.

Таблиця 2

Показники тіол-дисульфідної системи та вміст нітротирозину в корі головного мозку тварин з хронічною ішемією мозку

Показник	Група тварин		
	Основна (ішемія + цитиколін)	Контрольна (ішемія)	Псевдооперовані
Відновлені тіоли, мкмоль/г білка	15,39 (13,54–16,86)*	6,46 (4,72–8,00)#	29,85 (27,17–35,79)
Глутатіон відновлений, мкмоль/г білка	1,03 (0,87–1,14)*	0,68 (0,56–0,74)#	3,91 (3,72–4,15)
Нітротирозин, нмоль/г білка	11,41 (9,79–12,97)*	23,56 (17,77–31,67)#	7,02 (5,81–8,22)

Також встановлено збільшення в 3,4 рази кількості нітротирозину – нейротоксичного маркера нітрозуючого стресу (табл. 2). Наведені зміни свідчать про наявність оксидантного та нітрозуючого стресів у тканині мозку експериментальних тварин з ХІМ.

Проведеним експериментальним дослідженням встановлено, що призначення цитиколіну білим щурам упродовж 21 доби призвело до підвищення активності ферментів глутатионового ланцюга тіол-дисульфідної системи – ГР, ГПО та ГТ порівняно з показниками тварин з ХІМ (табл. 1).

Позитивний вплив цитиколіну був відмічений і на стан компонентів глутатионового ланцюга тіол-дисульфідної системи: збільшувалася кількість SH-груп, відновленого глутатіону. Також спостерігали вірогідне зниження вмісту нітротирозину – основного маркера нітрозуючого стресу (табл. 2).

У контрольній групі тварин з модельованою ХІМ спостерігали порушення запам'ятовування, визначене за тестом УРПУ, що свідчило про розвиток когнітивного дефіциту внаслідок ішемічного ушкодження мозкової тканини. Різниця латентних періодів (J_2-J_1) заходу тварин у темний відсік зменшилася на 92,2 % (p < 0,001) за тестом УРПУ порівняно з псевдооперованими тваринами.

Після терапії цитиколіном відмічено збільшення показника J_2-J_1 на 82,0 % порівняно з контролем (ХІМ) (p < 0,001), що свідчило про покращання когнітивних функцій та процесу запам'ятовування в експериментальних тварин.

Таким чином, проведення експериментальної нейропротективної терапії на тлі модельованої ХІМ у білих щурів сприяло зниженню інтенсивності оксидантного та нітрозуючого стресів у мозковій тканині та покращанню когнітивних функцій.

Висновки

1. За умов експериментальної ХІМ спостерігали активацію оксидантного та нітрозуючого стресів, що проявлялося зниженням активності антиоксидантних ферментів глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи та підвищенням вмісту нітротирозину в корі головного мозку білих щурів.
2. У разі введення цитиколіну експериментальним тваринам з моделюваною ХІМ підвищувалася активність антиоксидантних ферментів – ГР, ГПО та ГТ, уміст відновленого глутатіону й відновле-

них тіольних груп, а також знижувався вміст нітротирозину, що свідчило про гальмування препаратом основних механізмів вторинного ураження головного мозку в разі ХІМ – оксидантного та нітрозуючого стресу, що дає змогу забезпечити стійкість мозкової тканини за церебральної ішемії.

3. За результатами поведінки тварин у тесті умовно-рефлекторного пасивного уникнення цитиколін достовірно покращував процес запам'ятовування в експериментальних тварин з моделюваною ХІМ.

1. Беленичев И. Ф. Рациональная нейропротекция / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Ю. М. Колесник. – Донецк : Изд. Дом «Заславский», 2009. – 261 с.
2. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин [и др.]. – Новосибирск : «АРТА», 2008. – 284 с.
3. Кулинский В. И. Глутатин ядра клетки и его функции / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Биомедицинская химия. – 2010. – Т. 56, Вып. 6. – С. 657–662.
4. Glutathione metabolism during aging and in Alzheimer disease / H. Liu, H. Wang, S. Shenvi [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2004. – V. 1019. – P. 346–349.
5. Glutathione peroxidase-1 contributes to the neuroprotection seen in the superoxide dismutase-1 transgenic mouse in response to ischemia/reperfusion injury / P. J. Crack, J. M. Taylor, J. B. Haan [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2003. – V. 23, № 1. – P. 19–22.
6. Dhar-Mascareño M. Hypoxia-reoxygenation induced mitochondrial damage and apoptosis in human endothelial cells are inhibited by vitamin C / M. Dhar-Mascareño, J. M. Carcamo, D. W. Golde // Free Radic Biol Med. – 2005. – № 38. – P. 1311–1322.
7. Transitory glutathione deficit during brain development induces cognitive impairment in juvenile and adult rats: relevance to schizophrenia / J. Cabungcal, D. Preissman, C. Delseth, K. Do // Neurobiology of Disease. – 2007. – V. 26. – P. 634–645.
8. Путилина М. В. Особенности комбинированной нейропротекторной терапии острых нарушений мозгового кровообращения / М. В. Путилина // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17, № 4. – С. 261–267.
9. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Л. А. Громов [и др.] // Метод. рекомендации ГФЦ МЗ Украины. – Киев, 2010. – 81 с.
10. Adibhafla R. M. Citidine 5-diphosphocholine (CDP-Choline) in stroke and other CNS disorders / R. M. Adibhafla, J. F. Hatcher // Neurochemica Research. – 2005. – V. 30. – P. 15–23.
11. Alonsode Lecinana M. Effect of combined therapy with thrombolysis and citicoline in a rat model of embolic stroke / M. Alonsode Lecinana, M. Gutierrez, J. M. Roda et al. // J. NeurolSci. – 2006. – V. 247. – P. 121–129.
12. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике. – Москва : Медицина, 1987. – 368 с.
13. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – Москва : Высшая школа, 1991. – 527 с.

А. В. Демченко, І. Ф. Беленічев

Стан глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи мозку білих щурів після корекції цитиколіном моделюваної хронічної ішемії

З метою вивчення нейропротективних властивостей та впливу на когнітивні функції за умов моделюваної хронічної ішемії мозку цитиколіну проведено дослідження з використанням біохімічних, імуноферментних, фармакологічних та статистичних методів.

Дослідження проводили на 45 білих щурах обох статей масою 180–200 г. Тварин перед початком дослідження було розподілено на 3 групи: 1) тварини з хронічною ішемією мозку (ХІМ), які отримували цитиколін (Цераксон) у дозі 250 мг/кг (n = 15); 2) контрольні – тварини з ХІМ, які отримували фізіологічний розчин (2 мл/кг) протягом часу спостереження (n = 15); псевдооперовані тварини (n = 15). Цитиколін вводили внутрішньоочеревинно 1 раз на 1 добу впродовж 21 доби, починаючи з першої, відразу після виходу тварин з наркозу. Тварин виводили з експерименту на 21 добу спостереження під

тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Досліджували показники глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи в тканині кори головного мозку: активність глутатіонтрансферази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази, концентрацію відновленого глутатіону, відновлених (SH)-груп тіолів. Когнітивний дефіцит експериментальних тварин оцінювали за їхньою здатністю до навчання та запам'ятовування аверсивного стимулу в тесті «Умовно рефлекторного пасивного уникнення» (УРПУ).

Встановлено, що хронічна ішемія мозку призводить до зниження активності антиоксидантних ферментів глутатіонового ланцюга та змін тіол-дисульфідної рівноваги клітини у вигляді зменшення вмісту відновлених форм. Відмічено збільшення вмісту нейротоксичного маркера нітрозуючого стресу – нітритрозину. В експериментальній групі тварин з моделюваною хронічною ішемією мозку (контроль) спостерігали розвиток когнітивного дефіциту за тестом УРПУ.

У роботі доведено здатність цитиколіну позитивно впливати на молекулярно-біохімічні зміни в головному мозку ішемізованих експериментальних тварин, що проявилось збільшенням активності глутатіонзалежних ферментів тіол-дисульфідної системи, встановленням тіол-дисульфідної рівноваги та зниженням вмісту маркера нейродеструкції – нітритрозину. Також відмічено збільшення різниці латентних періодів за тестом УРПУ.

Результати дослідження свідчать про зниження інтенсивності процесів оксидантного та нітрозуючого стресів, а також покращання когнітивних функцій у експериментальних тварин після нейропротективної дії цитиколіну (Цераксону).

Ключові слова: хронічна ішемія мозку, тіол-дисульфідна система, глутатіон, нітритрозин, цитиколін

А. В. Демченко, І. Ф. Беленичев

Состояние глутатионового звена тиол-дисульфидной системы мозга белых крыс после коррекции цитиколином моделированной хронической ишемии

С целью изучения нейропротекторных свойств цитиколина и влияния на когнитивные функции в условиях моделированной хронической ишемии мозга (ХИМ) проведено исследование с использованием биохимических, иммуноферментных, фармакологических и статистических методов.

Исследование проведено на 45 белых крысах обоего пола массой 180–200 г. Животные перед началом исследования были распределены на три группы: 1) основная – животные с ХИМ, которые получали цитиколин (Цераксон) в дозе 250 мг/кг (n = 15); 2) контрольная – животные с ХИМ, которые получали физиологический раствор (2 мл/кг) в течение периода наблюдения (n = 15); 3) ложнопериоперированные животные (n = 15). Цитиколин вводили внутривентриально 1 раз в 1 сутки в течение 21 суток, начиная с первых, сразу после выхода животных из наркоза. Животных выводили из эксперимента на 21 сутки наблюдения под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг). Исследовали показатели глутатионового звена тиол-дисульфидной системы в коре головного мозга: активность глутатіонтрансферази, глутатіонредуктази и глутатіонпероксидази, концентрацию восстановленного глутатиона, восстановленных (SH)-групп тиолов. Когнитивный дефицит экспериментальных животных оценивали по их способности к обучению и запоминанию аверсивного стимула в тесте «Условно рефлекторного пассивного избегания» (УРПИ).

Установлено, что моделированная хроническая ишемия мозга приводит к снижению активности антиоксидантных ферментов глутатионового звена и смещению тиол-дисульфидного равновесия в сторону снижения содержания восстановленных форм. Установлено увеличение содержания нейроксического маркера нитрозирующего стресса – нитритрозина. В экспериментальной группе животных с моделированной хронической ишемией мозга (контроль) наблюдали развитие когнитивного дефицита по тесту УРПИ.

В работе представлена способность цитиколина положительно влиять на молекулярно-биохимические изменения в головном мозге ишемизированных экспериментальных животных, что проявилось увеличением активности глутатіонзависимых ферментов тиол-дисульфидной системы, установлением тиол-дисульфидного равновесия и снижением содержания маркера нейродеструкции – нитритрозина. Также отмечено увеличение разницы латентных периодов по тесту УРПИ.

Результаты исследования свидетельствуют о снижении интенсивности процессов оксидантного и нитрозирующего стрессов, а также об улучшении когнитивных функций у экспериментальных животных после нейропротекторного действия цитиколина.

Ключевые слова: хроническая ишемия мозга, тиол-дисульфидная система, глутатіон, нитритрозин, цитиколин

A. V. Demchenko, I. F. Belienichev

Glutathione link state of thiol disulfide system of white rats brain after treatment by citicoline of simulated chronic cerebral ischemia

The aim of this study was to evaluate citicoline (ceraxon) neuroprotector properties and its influence on cognitive functions in conditions of simulated chronic cerebral ischemia. It has been performed in experiments on 45 white rats with average weight 180–200 g using biochemical, immunoenzyme, pharmacological and statistic methods.

All animals were divided into 3 groups: 1) animals with chronic cerebral ischemia treated with citicoline (ceraxon) in dose of 250 mg/kg (n = 15); 2) control – animals with chronic cerebral ischemia which were treated with physiological solution in dose 2ml/kg (n = 15); 3) pseudo-operated animals (n = 15). Citicoline was injected intraperitoneally one time per twenty-four hours during 21 day and was administered from the first day immediately after animals had been recovered from anesthesia. Animals were taken out from the experiment on 21st day of observation using thiopental anaesthetic (40 mg/kg). Rates of thiol disulfide system glutathione link were studied: activity of glutathione transferase, glutathione reduced and glutathione peroxidase; concentration of reduced glutathione, renovated (SH)-groups thiols. Cognitive deficit of laboratory animals was estimated due to their ability to study and to remember aversive stimulus using test «Conditional passive avoidance reflex» (PASR).

The data obtained suggest that chronic cerebral ischemia caused decreasing in activity of glutathione link antioxidant enzymes and changes of thiol-disulfide cell balance as well its reduced forms contents. The increase of nitrosative stress neurotoxic marker (nitrotyrosine) has been observed. In the experimental group of animals with simulated chronic cerebral ischemia (control) development of cognitive deficit, has been observed due to the PASR test.

Thus, citicoline positive influence on molecular and biochemical changes in brain of laboratory animals suffered from ischemia was established. This influence was due to an increase of glutathione-dependent enzymes activity, the establishment of thiol-disulfide balance and the reduction of neurodestructive marker contents – nitrotyrosine. Citicoline neuroprotector therapy led to an increase of latent period time, due to the PASR test.

The results of this study indicate a reduction of oxidative and nitrosative stresses intensity and the improvement of cognitive functions of laboratory animals after citicoline administration.

Key words: chronic cerebral ischemia, thiol disulfide system, glutathione, nitrotyrosine, neuroprotectors, citicoline (ceraxon)

Надійшла: 02.03.2015 р.

Контактна особа: Беленічев Ігор Федорович, професор, доктор медичних наук, кафедра фармакології та медичної рецептури, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: + 38 0 67 976 44 86.
Електронна пошта: ibf1914@mail.ru