УДК 615.21:616. 831-005.4+612.821.35+616-092.9

Ցիտիկոլինի ազդեցությունը գլխուղեղի լոկալ իշեմիայով պայմանավորված առնետների վարքագծային փոփոխությունների վրա

Մ.Գ. Բալասանյան, Տ.Ս. Գրիգորյան

ԵՊԲՀ ակադեմիկոս Ս.Հ. Միրզոյանի անվ. դեղաբանության ամբիոն, 0025,Երևան, Կորյունի փ., 2

Բանալի բառեր. գլխուղեղի իշեմիա, ցիտիկոլին, տագնապի կանխում, կոորդինացիայի բարելավում

Գլխուղեղի անոթային ախտահարումը կլինիկական նյարդաբանության կարևորագույն խնդիրներից է, քանի որ կաթվածը և ուղեղի արյան շրջանառության խանգարումները ներկայումս հանդիսանում են (հատկապես զարգացած երկրներում) մահացության և աշխատունակության կայուն կորստի կարևոր պատճառներից [1]: Ուղեղի լոկալ իշեմիայի հետևանքով զարգացող հոգենյարդաբանական շեղումները ընդգրկում են էմոցիոնալ խանգարումների բավականին լայն սպեկտր [8], ներառյալ տագնապի զարգացումը [5] հիշողության թուլացումն [9] ու ընդհանուր շարժողական ակտիվության ընկճումը [6]: Ընդ որում իշեմիկ ախտահարումների հետևանքով զարգացող հոգենյարդաբանական խանգարումների բուժման համար օգտագործվող հիմնական դեղամիջոցների՝ բարբիտուրատների ու հակադեպրեսանտների կողմնակի ազդեցությունները իշեմիայի պայմաններում առավել արտահայտված են դառնում [8]: Այս ամենը հիմնավորում է իշեմիայի հետևանքով զարգացած խանգարումների շտկման համար նոր դեղերի փնտրտուկը, որոնց շարքում հատկապես կարևորվում են նվազ կողմնակի ազդեցություններով էնդոգեն ծագման միացությունները, որոնց թվին է պատկանում ցիտիկոլինը:

Ցիտիկոլինը (ցիտիդին-5-դիֆոսֆոխոլին՝ ՑԴՖԽ), հանդիսանալով բնական էնդոգեն նուկլեոզիդ և ֆոսֆատիդիլխոլինի սինթեզի սկզբնանյութ [10], մասնակցում է գլխուղեղի մի շարք ախտաբանական փոփոխությունների շտկման գործընթացներում [3]: Դա բացատրվում է նրանով, որ ՑԴՖԽ-ից անջատված խոլինը ելանյութ է հանդիսանում ացետիլխոլինի սինթեզի համար [15]: Ցիտիկոլինը խթանում է նեյրոն-

ների մեմբրանի կառուցվածքային ֆոսֆոլիպիդների սինթեզը և գլխուղեղում փոխանակային գործընթացները՝ ներգործելով այնպիսի միջնորդանյութերի մակարդակի վրա, ինչպիսիք են ացետիլխոլինը, դոպամինը [14], նորադրենալինը [18]: Այն նաև ազդում է գլուտամատի ձերբազատման վրա [11]: Ցիտիկոլինը վերականգնում է թաղանթային Na/K ԱԵՖ-ազի և միտոքոնդրիալ ԱԵՖ-ազի գործունեությունը, ընկճում է որոշ ֆոսֆոլիպազների ակտիվությունը և արագացնում է գլխուղեղի այտուցի ներծծումը [13]:

Հաշվի առնելով ցիտիկոլինի վերոնշյալ հատկությունները մեր հետազոտության նպատակն է հանդիսացել հետազոտել ցիտիկոլինի լոկալ իշեմիայի հետևանքով զարգացող վարքագծային փոփոխությունները շտկելու հատկությունը առնետների մոտ:

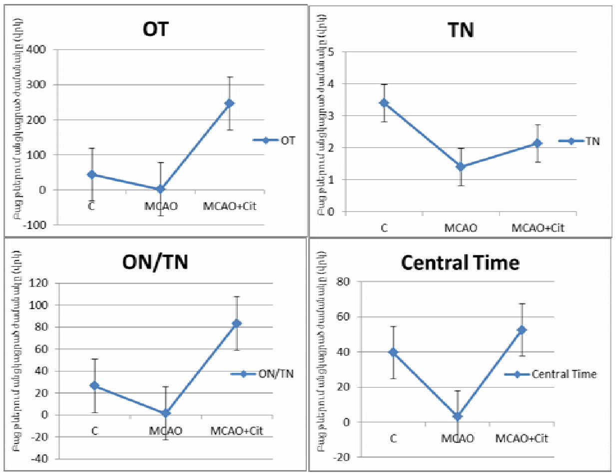
Նյութն ու մեթոդները

Հետազոտությունները անցկացվել են 180-200 գ ոչ ցեղական սպիտակ արու առնետների վրա: Բոլոր կենդանիները պահվել են լաբորոտոր վիվարիումի պայմաններում: Ընդհանուր անզգայացումը կատարվել է 4%-ոց քլորալհիդրատով (0,2մլ/100գ-ի հաշվարկով): Լոկալ իշեմիա ստանալու նպատակով իրականացվել է միջին ուղեղի զարկերակի կապում (ՄՈՒԶԿ) ըստ Tamura et al. (1981) և Թոփչյան Հ. Վ. և համահեղ. (1998) մոդիֆիկացված մեթոդի [2,7]: Նախքան ՄՈՒԶԿ-ը առնետները խմբավորվել են *Բաց դաշտ* [16] թեստի օգնությամբ բարձր, միջին և ցածր ակտիվության կենդանիների: Փորձերի համար վերցվել են ցածր և միջին ակտիվությամբ կենդանիները [16], որոնց ընդհանուր շարժողական ակտիվությունը եղել է մինչև 10 և 10-20 համապատասխանաբար: Առնետների շարժողական կոորդինացիան հետազոտվել է համաձայն Rota-Rod Treadmill թեստի (RRTԹ) [18]: Կենդանիների մոտ տագնապի զարգացման ուսումնասիրությունը իրականացվել է *բարձրացված խաչանման լաբիրինթոս* (ԲԽԼ) [12] թեստով: Գնահատվել են հետևյալ ցուցանիշները. բաց թևերում անցկացրած ժամանակը (OT), ընդհանուր մուտքերի թիվը (TN), բաց թևերի հաճախումների տոկոսը (ON/TN), լաբիրինթոսի կենտրոնում անցկացված ժամանակահատվածը (Central Time): Վարքագծի փոփոխությունները գրանցվել են ՄՈՒԶԿ-ից 6 և 12 օր հետո: Ստացված արդյունքների վիճակագրական մշակումը կատարվել է ըստ ANOVA միագործոն դիսպերսված անալիտիկ մեթոդի [4] : Ստացված արդյունքների հավաստիությունը գնահատվել է ըստ Ստյուդենտի t-չափանիշի:

Արդյունքները եվ դրանց քննարկումը

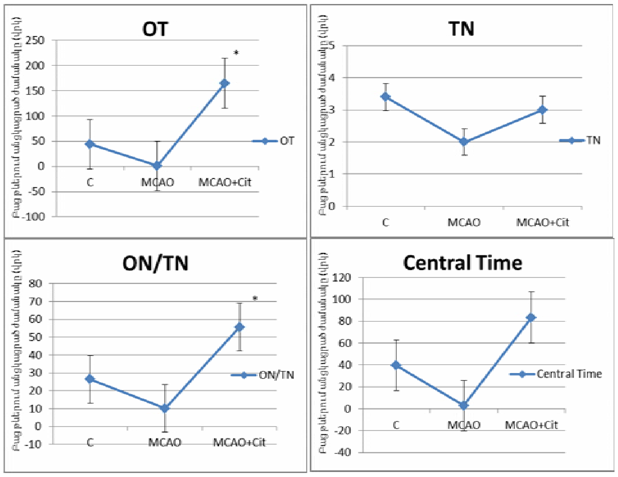
Ինչպես վկայում են կատարված փորձերը (նկ. 1), միջին ուղեղային զարկերակի օկլյուզիայի հետևանքով առնետների մոտ նկատվում է տագնապի զարգացում, որը արտահայտվում է ԲԽԼ թեստում նրանց վարքը բնութագրող բոլոր ցուցանիշների փոփոխմամբ: Այսպես, օկլյուզիայից 6 օր հետո բաց թևերում անցկացրած ժամանակը նվազում է 96%-ով (44,5±64,9-ից 1,8±4), ընդհանուր մուտքերի թիվը՝ 58,8%-ով (3,4±2,5-ից 1,4±0,89), բաց թևերի հաճախումների տոկոսը՝ 94,7%-ով (26,44±21,2-ից 6,66±14,8), իսկ լաբիրինթոսի կենտրոնում անցկացրած ժամանակահատվածը՝ 91,9% -ով (39,6±58,3-ից 3,2±2):

Ցիտիկոլինի կիրառումը՝ առնետների տագնապը կանխելու նպատակով ցույց տվեց, որ դեղը օժտված է բավականաչափ արտահայտված տագնապամարիչ ազդեցությամբ: Օկլյուզիայի պայմաններում ցիտիկոլինի ներարկումից հետո (6 օրերի ընթացքում ներորովայնային օրը, 2 անգամ՝ 12,5մգ/կգ դեղաչափով) ԲԽԼ թեստում առնետների վարքը բնութագրող ցուցանիշները փոխվում են հետևյալ կերպ. բաց թևերում անցկացրած ժամանակը աճում է 99,3%-ով (1,8±4-ից 246±82), ընդհանուր մուտքերի թիվը՝ 34,5%-ով (1,4±0,89-ից 2,14±1,2), բաց թևերի հաճախումների տոկոսը՝ 92%-ով (6,66±14,8-ից 83,3±21,5), իսկ կենտրոնում անցկացված ժամանակահատվածը՝ 93,9%-ով (3,2±2-ից 52,6±92) իշեմիայի համեմատ:



Նկ. 1. Առնետների վարքը ԲԽԼ-թեստում ՄՈՒՁԿ-ից 6 օր անց (n=12), M±SD C- ստուգիչ խումբ, MCAO- ՄՈՒՁԿ, MCAO-Cit – ցիտիկոլինի ներարկումից 6 օր անց ՄՈՒՁԿ պայմաններում, P<0,05

Օկլյուզիայի ժամանակահատվածը մինչև 12 օր մեծացնելիս ԲԽԼ-ում առնետների վարքը բնութագրող ցուցանիշների փոփոխությունը էլ ավելի են խորանում (նկ. 2), ինչի մասին վկայում են հետևյալ արդյունքները. բաց թևերում անցկացրած ժամանակը նվազում է 97,7%-ով (44,5±64,9-ից 1±2,2), ընդհանուր մուտքերի թիվը՝ 41,3%-ով (3,4±2,5-ից 2±1), բաց թևերի հաճախումների տոկոսը՝ 62,2%-ով (26,44±21,2-ից 10±22), իսկ կենտրոնում անցկացված ժամանակահատվածը՝ 92,9%-ով (39,6±58,3-ից 2,8±1,7):

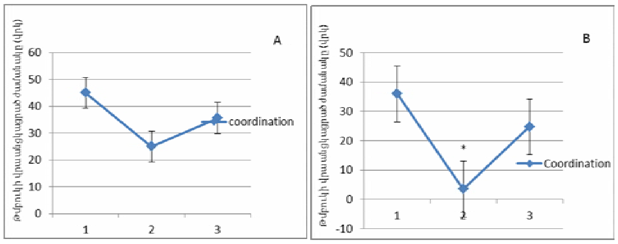


Նկ. 2. Առնետների վարքը ԲԽԼ-թեստում ՄՈՒՁԿ-ից 12 օր անց (n=14), M±SD
C- ստուգիչ խումբ, MCAO- ՄՈՒՁԿ, MCAO-Cit – ցիտիկոլինի ներարկումից 12 օր անց ՄՈՒՁԿ պայմաններում, P<0,05

Ցիտիկոլինի ներարկումը մինչև 12 օր տևողությամբ ՄՈՒՁ-ի օկլյուզիայի պայմաններում նպաստում է վերը նշված ցուցանիշների փոփոխությանը օկլյուզիայի համեմատ հետևյալ կերպ. բաց թևերում անցկացրած ժամանակը աճել է 99,4%-ով (1±2,2-ից 165±126; P<0,05), ընդհանուր մուտքերի թիվը՝ 33,3%-ով (2±1-ից 3±1), բաց թևերի հաճախումների տոկոսը՝ 82%-ով (10±22-ից 55,6±9,6; P<0,05), իսկ կենտրոնում անցկացված ժամանակահատվածը՝ 96,6%-ով (2,8±1,7-ից 83,3±140):

Հետազոտությունների հաջորդ շարքում ուսումնասիրվել է ցիտիկոլինի ազդեցությունը օկլյուզիայի հետևանքով զարգացած առնետների կոորդինացիայի խանգարումների վրա (նկ. 3A,B): Ստացված տվյալները վկայում են, որ ՄՈՒՁ-ի 6 օր տևողությամբ օկլյուզիան բերում է կոորդինացիայի խախտմանը, ինչը արտահայտվում է առնետների թմբուկի վրա անցկացրած ժամանակի նվազեցմամբ 44%-ով

(45±28-ից 25±23,7)։ ՄՈՒԶՃ-ի 12-րդ օրը նշված ցուցանիշը կազմեց 92,2% (45±28-ից 3,5±1,9; P<0,05)։



Նկ. 3.Առնետների կոորդինացիայի փոփոխությունը ՄՈՒԶԿ-ից 6 և 12 օր անց (n=12), M±SD։

A-1-մինչև MCAO, 2- ՄՈՒԶԿ-ից 6 օր անց, 3- ցիտիկոլինի ներարկումից 6 օր անց ՄՈՒԶԿ պայմաններում

B-1- մինչև MCAO, 2- ՄՈՒԶԿ-ից 12 օր անց, 3- ցիտիկոլինի ներարկումից 12 օր անց ՄՈՒԶԿ պայմաններում, P<0,05

Ցիտիկոլինի կիրառումը՝ կենդանիների կոորդինացիան բարելավելու նպատակով ցույց տվեց, որ դեղամիջոցը օժտված է զգալի արտահայտված դրական ազդեցությամբ։ Այսպես, օկլյուզիայի պայմաններում ցիտիկոլինի ներարկելուց հետո (6 օրերի ընթացքում ներորովայնային, օրը 2 անգամ) նկատվում է կենդանիների կոորդինացիայի բարելավում, ինչը արտահայտվում է թմբուկի վրա անցկացրած ժամանակի մեծացմամբ 29,8%-ով (25±23,7-ից 35,6±36,9) դեղ չստացած կենդանիների համեմատ։ Ցիտիկոլինի ներարկումը օկլյուզիայից հետո 12 օրերի ընթացքում նպաստում է կոորդինացիայի էլ ավելի արտահայտված բարելավմանը, քանի որ թմբուկի վրա անցկացրած ժամանակը ստուգիչ խմբի համեմատ նվազում է ընդամենը 23,9%-ով (32,6±26,8-ից 24,8±28,8), ինչը վկայում է այն մասին, որ պրեպարատը կանխել է ՄՈՒԶԿ 12 օրերի ընթացքում նկատվող կոորդինացիայի խախտումը 85,9%-ով (3,5±1,9-ից 24,8±28,8)։ Ցիտիկոլին ստացած առնետների թմբուկի վրա անցկացրած ժամանակը օկլյուզիայի ենթարկված կենդանիների հետ համեմատ աճել է մոտ 3,5 անգամ։

Այսպիսով, կատարված փորձերը վկայում են, որ ցիտիկոլինը նպաստում է իշեմիայի հետևանքով առնետների մոտ զարգացող տագնապի կանխմանը և կենդանիների կոորդինացիայի խանգարումների նվազեցմանը։

Поступила 03.12.12

Влияние цитиколина на изменения поведенческих реакций крыс, вызванных локальной ишемией мозга

М.Г. Баласанян, Т.С. Григорян

Полученные данные свидетельствуют о способности цитиколина устранять нейроповеденческие последствия локальной ишемии, вызванные окклюзией средней мозговой артерии крыс (ОСМА). В тесте *приподнятого крестообразного лабиринта* (ПКЛ) выявлено, что введение цитиколина сопровождается улучшением всех параметров, характеризующих поведение крыс в ПКЛ. Исследование нарушений координации показало, что цитиколин приводит к увеличению времени, проведенного животными на барабане.

Полученные результаты свидетельствуют о способности препарата предотвращать развитие тревожности и устранять нарушения координации, вызванные ОСМА у крыс.

Influence of citicoline on behavioral changes induced by cerebral focal ischemia

M.G. Balasanyan, T.S. Grigoryan

Obtained data have shown the ability of citicoline to eliminate neurobehavioral consequences of local ischemia induced by MCAO in rats. *Elevated plus-maze* (EPM) results have shown a significant differences between the control and experimental groups of rats after MCAO. The experimental group of rats receiving citicoline spent more time in the open arms than the control group. The percent of open arm entries and total number of entries were also higher in drug administered group of rats. The experimental group responded to citicoline injection by significant increase of center square time as well. Investigation of disturbances of coordination evidenced about the ability to enhance the time spent by animals on drum.

As the results have shown, citicoline prevents the development of anxiety and eliminates disturbances of coordination in animals in conditions of acute cerebral ischemia.

Գրականություն

1. *Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В.* Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова, 2007, т.107, 8, с.4-10.

2. *Топчян А.В. и др.* Фармакологическая коррекция кровоснабжения и функционального состояния мозга при его локальном ишемическом поражении. Автореф. дис... докт. мед. наук. М., 1998.
3. *Adibhatla R.M., Hatcher J.F., Dempsey R.J.* Citicoline, neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. Journal of Neurochemistry, 2002;80, p.12-23.
4. *Analyzing ANOVA* Designs. Biometrics Information Handbook, 5, 1995, 07, p. 9.
5. *Astrom M.* Generalized anxiety disorder in stroke patients, Stroke, 1996;27:270-275.
6. *Béjot Y., Giroud M., Moreau T. et al.* Clinical spectrum of movement disorders after stroke in childhood and adulthood. Eur. Neurol., 2012;68(1):59-64.
7. *Cansev M., Ilcol Y.O., Yilmaz M.S.* Peripheral administration of CDP-choline, phosphocholine or choline increases plasma adrenaline and noradrenaline concentrations. Autonomic and Autacoid Pharmacology, 2008;28:41–58.
8. *Hama S., Yamashita H., Yamawaki S. et al.* Post-stroke depression and apathy: Interactions between functional recovery, lesion location, and emotional response. Psychogeriatrics, 2011;11(1):68-76.
9. *Karasawa N., Arai R. Isomura G.* Phenotypic changes of AADC-only immunopositive premammillary neurons in the brain of laboratory shrew Suncus murinus by systemic administration of monoamine precursors. Neurosci. Lett., 1994;179(1-2):65-70.
10. *Kennedy E. P., Weiss S.* The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of Phospholipides B. J. Biol., Chem., 1956;222, p. 193–214.
11. *Olivia H., Marıa A.M., Antonio C. et al*. Neuroprotection afforded by prior citicoline administration in experimental brain ischemia: effects on glutamate transport. Neurobiology of Disease, 2005;18;336–345.
12. *Pellow S., Chopin P., Briley M.* Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat., J. Neurosci. Meth., 1985;14, p. 149-167.
13. *Rao M. A., Hatcher J.F. and Dempsey R.J.* Citicoline: neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. J. of Neurochemistry, 2002;80:12–23.
14. *Rosa Gimenez, Josep Raich and Juan Aguilar* Changes in brain striatum dopamine and acetylcholine receptors induced by chronic CDP-choline treatment of aging mice, Br. J. Pharmacol., 1991;104:575-578.
15. *Secades J.,* CDP-choline: update and review of its pharmacology and clinical use. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., 2002, 24, p.1-53.
16. *Seredenin S.B., Voronina T.A. et al.* Pharmacogenetic concepts of anxiolytic effect. Vestnik RAMN, 1998;11, p.3-9.
17. *Tamura A., Graham I.D., et al.* Journal Cerebral Blood Flow Metabolism, Focal cerebral ischemia in the rat: Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion., 1981;1, p. 53-60.
18. *Yang Y.R., Chang H.C., Wang P.S. et al.* Motor performance improved by exercises in cerebral ischemic rats. J. Mot. Behav., 2012;44(2):97-103.