

УДК 616-092:615.214.31]001.891

Антиноцицептивные эффекты внутрибрюшинного введения цитиколина на моделях острой боли у крыс линии Вистар

Кузнецова Л.В., Карпова М.Н., Клишина Н.В., Кукушкин М.Л.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Цель исследования — изучение дозозависимого эффекта мультимодального препарата цитиколина на моделях острой боли у крыс линии Вистар. **Методы.** Оценку изменения индивидуальной болевой чувствительности у животных проводили с помощью 2 стандартных тестов: «Tail flick» и «Hot plate». Проведено 2 серии опытов. В 1-й и 2-й сериях опытов определяли пороги болевой чувствительности (ПБЧ) у животных до и через 1 час после внутрибрюшинного введения цитиколина в дозах 500 и 1000 мг/кг. **Результаты.** Введение цитиколин в дозе 500 мг/кг оказывает антиноцицептивное действие: ПБЧ повышался по тестам Tail flick и Hot plate. Увеличение дозы цитиколина до 1000 мг/кг не оказывало более выраженного антиноцицептивного действия. **Заключение.** Введение цитиколина оказывает антиноцицептивные эффекты у крыс, что может свидетельствовать о холинергической активации, индуцированной цитиколином.

Ключевые слова: острая боль; болевая чувствительность; цитиколин; крысы.

Для цитирования: Кузнецова Л.В., Карпова М.Н., Клишина Н.В., Кукушкин М.Л. Антиноцицептивные эффекты внутрибрюшинного введения цитиколина на моделях острой боли у крыс линии Вистар. Патогенез. 2018; 16(3): 98—100

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.98-100

Для корреспонденции: Карпова Маргарита Николаевна, e-mail: karpovamn@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 19.08.2018

Antinociceptive effects of intraperitoneal citicoline administration on rat models of acute pain

Kuznetsova L.V., Karpova M.N., Klishina N.Yu., Kukushkin M.L.

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

The aim was to study the dose-dependent effect of the multimodal drug citicoline on models of acute pain in Wistar rats. Methods. Assessment of changes in individual pain sensitivity was performed using 2 standard tests, Tail Flick and Hot Plate. Two series of experiments were carried out. In the 1st and 2nd series of experiments, pain thresholds (PS) were determined prior to and one hour after intraperitoneal citicoline administration at doses of 500 and 1000 mg/kg. **Results.** Administration of citicoline 500 mg/kg had an antinociceptive effect: PS increased both in the Tail Flick and in the Hot Plate tests. Increasing the citicoline dose to 1000 mg/kg did not exert a more pronounced antinociceptive effect. **Conclusion.** Citicoline exerts antinociceptive effects in rats, which may indicate the cholinergic activation induced by citicoline.

Keywords: acute pain; pain sensitivity; pain threshold; citicoline; rats.

For citation: Kuznetsova L.V., Karpova M.N., Klishina N.Yu., Kukushkin M.L. [Antinociceptive effects of intraperitoneal citicoline administration on rat models of acute pain]. Patogenez [Pathogenesis]. 2018; 16(3): 98—100 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.98-100

For correspondence: Karpova Margarita Nikolaevna, e-mail: karpovamn@gmail.com

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 19.08.2018

Введение

Экзогенно введенный цитиколин (цитидин-5'-дифосфат холин, CDP-холин) — аналог эндогенного цитиколина — является естественным метаболитом биохимических процессов в организме и сочетает в своем спектре действия ноотропные, нейрометаболические, нейромедиаторные, ней-

ропротекторные, нейрогенеративные и противосудорожные эффекты как при различных экспериментальных моделях повреждения центральной нервной системы (ЦНС), так и при заболеваниях ЦНС, и широко применяется в лечении ишемического и геморрагического инсульта, церебральной ишемии, травматического повреждения головного мозга,

гипоксии, болезни Альцгеймера и Паркинсона, алкоголизма, наркомании, амблиопии и глаукомы, когнитивных, чувствительных и двигательных неврологических нарушений дегенеративной и сосудистой этиологии и других нейродегенеративных заболеваниях [1–3].

Цитиколин гидролизуетсЯ и дефосфорилируеТсЯ с образованием цитидина и холина. Цитиколин в значительной степени распределяеТсЯ в структурах головного мозга с быстрым включением фракции холина в структурные фосфолипиды и фракции цитидина — в цитидиновые нуклеотиды и нуклеиновые кислоты. Он не только восстанавливает поврежденные нейрональные мембраны, а также служит донором холина в биосинтезе нейротрансмиттера ацетилхолина [3]. При повышении уровня холина в плазме и тканях происходит увеличение синтеза ацетилхолина, усиление холинергической передачи, а активация холинергической системы различными холинергическими агонистами и антихолинэстеразными агентами индуцирует антиноцицепцию у лабораторных животных [4–6]. Экзогенное введение цитиколина крысам вызывает увеличение синтеза и/или высвобождение ацетилхолина и холина в мозге [7].

Цель исследования — изучение дозозависимого эффекта мультимодального препарата цитиколина на моделях острой боли у крыс линии Вистар.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на крысах самцах линии Вистар ($n = 59$) массой 180–210 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария с естественной сменой светового цикла при свободном доступе к воде и пище. Все процедуры и эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016, и Межгосударственными стандартами ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», соответствующими Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS N 123, Страсбург, 18 марта 1986 г. с приложением от 15.06.2006). Исследования проводили под контролем Этического комитета ФГБНУ НИИОПП.

Оценку изменения индивидуальной болевой чувствительности у животных проводили с помощью 2 стандартных тестов. Тест отдергивания хвоста (воздействие на него фокусированного теплового луча) — «Tail flick» позволяет оценить особенности регуляции болевой чувстви-

тельности на уровне сегментарных отделов спинного мозга. Измерение порога болевой чувствительности (ПБЧ) проводили при помощи прибора «Ugo Basile» (Италия), позволяющий подавать сфокусированный пучок света на хвост животного и фиксировать время появления болевой реакции (латентный период) по отведению хвоста животного. Оценка болевой чувствительности с помощью теста горячей пластины «Hot plate» используется для определения особенностей регуляции болевой чувствительности на уровне центральных структур мозга. ПБЧ измерялся по времени, через которое животное, находящееся на нагретой до 55°C металлической пластине, начинало облизывать лапу или подпрыгивать. Измерение ПБЧ проводили при помощи прибора «TSE Systems» (Германия), позволяющего регулировать нагрев пластины и фиксировать время появления болевого поведения животного. Величина ПБЧ измерялась в секундах по времени появления отведения хвоста в «Tail flick» или по времени появления болевого поведения животного (облизывания лап или подпрыгивания) в «Hot plate».

Проведено 2 серии опытов. В 1-й и 2-й сериях опытов определяли ПБЧ у животных до и через 1 час после внутрибрюшинного введения цитиколина (Цераксон, «Nicomed Ferrer Internacional, S.A.») в дозах 500 и 1000 мг/кг. В выборе доз цитиколина исходили из результатов исследований по изучению влияния внутрибрюшинного введения препарата на острую судорожную реакцию, вызванную конвульсантом пентилентетразолом у крыс и мышей [8, 9]. Во всех сериях контролем служили животные, которым вводили физиологический раствор в аналогичных условиях опыта.

Статистическую обработку данных осуществляли по алгоритмам программы «Statistica 8.0». Оценку значимости показателей и различий рассматриваемых выборок проводили по непараметрическому U-критерию Манна—Уитни. В качестве средневывборочной характеристики в сравниваемых группах использовали медиану (Me) и квартили ($Q1$; $Q3$). Достоверными считали различия между группами при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

В 1 серии опытов у контрольных животных чувствительность к боли была одинаковой до и после введения физиологического раствора: ПБЧ составили соответственно 3,5 (2,8; 5,3) с и 4,6 (3,4; 5,2) с по тесту «Tail flick» и 8,5 (6,2; 9,5) с и 7,0 (5,4; 9,3) с по тесту «Hot plate» (таблица). Введение цитиколина в дозе 500 мг/кг оказывает антиноцицептивное действие: ПБЧ увеличивался по обоим тестам.

Таблица

Изменение порогов болевой чувствительности после внутрибрюшинного введения цитиколина в дозах 500 и 1000 мг/кг (Me ; ($Q1$; $Q3$))

Серия	Группы и число животных (n)	До введения		После введения	
		Tail flick (с)	Hot plate (с)	Tail flick (с)	Hot plate (с)
1	1 — контроль, физ. р-р, $n = 15$	3,5 (2,8; 5,3)	8,5 (6,2; 9,5)	4,6 (3,4; 5,2)	7,0 (5,4; 9,3)
	2 — цитиколин, 500 мг/кг, $n = 15$	4,3 (2,8; 5,4)	6,8 (5,4; 7,7)	5,9 (4,8; 7,5)****	7,5 (7,1; 9,3)*
2	1 — контроль, физ. р-р, $n = 15$	3,5 (2,9; 4,2)	7,1 (5,3; 8,1)	3,8 (3,1; 3,9)	7,5 (6,1; 9,0)
	2 — цитиколин, 1000 мг/кг, $n = 14$	4,0 (3,2; 4,8)	5,4 (5,2; 6,0)	5,2 (3,7; 6,2)****	7,0 (6,4; 8,4)****

Примечание. **** $p = 0,002$; *** $p = 0,033$; ** $p = 0,044$; * $p = 0,046$ по сравнению с соответствующими показателями до введения препаратов; +++ $p = 0,005$, ++ $p = 0,01$ по сравнению с группой контрольных животных.

Во 2 серии опытов введение физиологического раствора контрольным животным также не влияло на чувствительность к боли по тестам «Tail flick» и «Hot plate». Увеличение дозы цитиколина до 1000 мг/кг не оказывало усиления антиноцицептивного действия (таблица).

Таким образом, введение цитиколина в дозе 500 мг/кг и 1000 мг/кг приводило к статистически значимому увеличению ПБЧ в обоих тестах.

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что системное (внутрибрюшинное) введение цитиколина оказывает обезболивающее действие у крыс. Схожие результаты были получены и в другом исследовании после подкожного введения цитиколина в зону воспаления, вызванного каррагином [10]. Авторы предположили, что противовоспалительный и антиноцицептивные эффекты цитиколина в каррагинин-индуцированной модели воспалительной боли опосредуются с помощью $\alpha 7nAChR$ рецепторов. Полученные результаты согласуются и с результатами других исследований, в которых были показаны антиноцицептивные эффекты после интрацеребровентрикулярного введения цитиколина крысам [4, 11].

Список литературы

1. Saver J.L. Citicoline: update on a promising and widely available agent for neuroprotection and neurorepair. *Rev. Neurol. Dis.* 2008; 5: 161-177.
2. Secades J.J. Probably role of citicoline in stroke rehabilitation: review of literature. *Rev. Neurol.* 2012; 54: 173-179.
3. Adibhatla R.M., Hatcher J.F., Dempsey R.J. Citicoline: Neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. *J. Neurochem.* 2002; 80: 12-23.
4. Hamurtekin E, Gurun M.S. The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res.* 2006; 1117: 92-100. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.118
5. Rowley T.J., McKinstry A., Greenidge E., Smith W., Flood P., Anaesth Br.J. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of choline in a mouse model of postoperative pain. *Br. J. Anaesth.* 2010; 105(2): 201-207. DOI: 10.1093/bja/aeq113
6. Gurun M.S., Parker R., Eisenach J.C., Vincler M. The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth. Analg.* 2009; 108: 1680-1687. DOI: 10.1213/ane.0b013e31819dcd08
7. Savci V., Cavun S., Goktalay G., Ulus I.H. Cardiovascular effects of intracerebroventricularly injected CDP-choline in normotensive and hypotensive animals: the involvement of cholinergic system. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2002; 365: 388-398. DOI: 10.1007/s00210-002-0531-4
8. Карпова М.Н., Зиньковский К.А., Кузнецова Л.В., Клишина Н.В. Повышение порогов судорожной реакции после введения цитиколина мышам линии C57Bl/6. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2014; 158 (9): 296-298. DOI: 10.1007/s10517-015-2750-y

Сведения об авторах:

Карпова Маргарита Николаевна — доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Кузнецова Лада Владимировна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Клишина Наталья Юрьевна — научный сотрудник лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Кукушкин Михаил Львович — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

ментальной биологии и медицины. 2014; 158 (9): 296-298. DOI: 10.1007/s10517-015-2750-y

9. Карпова М.Н., Кузнецова Л.В., Зиньковский К.А., Клишина Н.В. Противосудорожные эффекты цитиколина и вальпроата при их сочетанном применении на модели острых генерализованных судорог, вызванных пентилентетразолом у крыс Вистар. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2015; 160 (10): 425-429. DOI: 10.1007/s10517-016-3188-6

10. Gurun M.S., Parker R., Eisenach J.C., Vincler M. The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth. Analg.* 2009; 108(5): 1680-1687. DOI: 10.1213/ane.0b013e31819dcd08

11. Hamurtekin E., Bagdas D., Gurun M.S. Possible involvement of supraspinal opioid and GABA receptors in CDP-choline-induced antinociception in acute pain models in rats. *Neurosci. Lett.* 2007; 420(2): 116-121.

References

1. Saver J.L. Citicoline: update on a promising and widely available agent for neuroprotection and neurorepair. *Rev. Neurol. Dis.* 2008; 5: 161-177.
2. Secades J.J. Probably role of citicoline in stroke rehabilitation: review of literature. *Rev. Neurol.* 2012; 54: 173-179.
3. Adibhatla R.M., Hatcher J.F., Dempsey R.J. Citicoline: Neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. *J. Neurochem.* 2002; 80: 12-23.
4. Hamurtekin E, Gurun M.S. The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res.* 2006; 1117: 92-100. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.118
5. Rowley T.J., McKinstry A., Greenidge E., Smith W., Flood P., Anaesth Br.J. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of choline in a mouse model of postoperative pain. *Br. J. Anaesth.* 2010; 105(2): 201-207. DOI: 10.1093/bja/aeq113
6. Gurun M.S., Parker R., Eisenach J.C., Vincler M. The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth. Analg.* 2009; 108: 1680-1687. DOI: 10.1213/ane.0b013e31819dcd08
7. Savci V., Cavun S., Goktalay G., Ulus I.H. Cardiovascular effects of intracerebroventricularly injected CDP-choline in normotensive and hypotensive animals: the involvement of cholinergic system. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2002; 365: 388-398. DOI: 10.1007/s00210-002-0531-4
8. Karpova M.N., Kuznecova L.V., Zin'kovskij K.A., Klisshina N.V. Increasing the threshold of convulsive reactions after administration of citicoline mice C57Bl/6. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny [Bulletin of experimental biology and medicine]*. 2014; 158 (9): 296-298. (in Russian) DOI: 10.1007/s10517-015-2750-y
9. Karpova M.N., Zin'kovskij K.A., Kuznecova L.V., Klisshina N.V. [Anticonvulsant effects of citicoline and valproate during their combined application on the model of acute generalized seizures caused by pentylenetetrazole in Wistar rats]. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny [Bulletin of experimental biology and medicine]*. 2015; 160(10): 425-428. (in Russian) DOI: 10.1007/s10517-016-3188-6
10. Gurun M.S., Parker R., Eisenach J.C., Vincler M. The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth. Analg.* 2009; 108(5): 1680-1687. DOI: 10.1213/ane.0b013e31819dcd08
11. Hamurtekin E., Bagdas D., Gurun M.S. Possible involvement of supraspinal opioid and GABA receptors in CDP-choline-induced antinociception in acute pain models in rats. *Neurosci. Lett.* 2007; 420(2): 116-121.