

Антиамнестический эффект дихолина сукцината на моделях амнезии у крыс, вызванной введением скополамина или действием максимального электрошока

А.К. Сариев, В.М. Рычихин, Д.А. Абаимов

ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН;
ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН (Москва)

Изучены антиамнестические свойства дихолина сукцината на моделях амнезии, вызванной введением скополамина или действием максимального электрошока в тесте условного рефлекса пассивного избегания. опыты проводились на беспородных крысах-самцах. Выявлено, что субхроническое введение дихолина сукцината в дозе 25 мг/кг обладает выраженным антиамнестическим действием. Показано, что антиамнестический эффект дихолина сукцината при амнезии, вызванной максимальным электрошоком, выражен в большей степени, чем при скополаминовой амнезии.

Ключевые слова: дихолин сукцинат, антиамнестический эффект, скополамин, максимальный электрошок, условный рефлекс пассивного избегания.

В связи с тенденцией к общему постарению населения все большую актуальность приобретают различные геронтологические нейродегенеративные заболевания, такие, например, как, болезнь Альцгеймера (БА) [5]. Чаще всего она обнаруживается у людей старше 65 лет. Общепризнанная заболеваемость на 2006 г. оценивалась в 26,6 млн чел., а к 2050 г. число больных может вырасти вчетверо [1]. На сегодняшний день все большее развитие получает гипотеза о том, что одним из ранних событий в патогенезе деменции альцгеймеровского типа является снижение чувствительности нейрональных инсулиновых рецепторов, вызывающее дисбаланс в окислительном обмене глюкозы и энергетический дефицит в чувствительных к инсулину церебральных структурах [7]. В определенном смысле БА можно охарактеризовать как метаболическое заболевание с существенным и прогрессирующим нарушением способности мозга к утилизации глюкозы и реагированию на стимуляцию инсулином и инсулиноподобным фактором роста (ИФР) [8]. Современные знания о молекулярных механизмах развития БА позволяют создавать целевые препараты с направленным действием на различные патогенетические звенья данного заболевания – таргетное патогенетическое лечение [2].

Одним из потенциальных препаратов выбора для патогенетической терапии БА может считаться дихолин сукцинат (ДХС). ДХС может быть охарактеризован как *нейрональный инсулин-сенситайзер* – вещество, увеличивающее чувствительность инсулиновых рецепторов головного мозга к действию эндогенного инсулина. Препарат действует на уровне активации инсулинового рецептора, усиливая актив-

ность рецепторной тирозинкиназы посредством активации респираторной цепи митохондрий, в ответ на неэффективные субоптимальные концентрации инсулина [3, 4, 6].

Целью настоящего исследования явилось выявление антиамнестических свойств ДХС на моделях амнезии, вызванной скополамином и максимальным электрошоком.

Материалы и методы

Исследования влияния ДХС на общее состояние и поведение проводились в опытах на половозрелых белых беспородных крысах-самцах массой 200–220 г. Животные размещались по 10 особей в пластмассовых клетках. Содержание животных соответствовало СанПиН 2.1.2.12-18-2006 «Санитарные правила по обустройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Соблюдались этические правила гуманного обращения с животными, изложенные в директивах Совета Европейского сообщества 86/609/ЕЕС. Стандартная лабораторная диета соответствовала действующим нормам. Животные содержались в условиях свободного доступа к воде и корму при температуре 21°C и постоянном световом дне 14 часов (включением света в 8 час утра). Исследования выполнялись согласно Правилам лабораторной практики (Приказ Минздравсоцразвития России №708н от 23 августа 2010 г.).

Условный рефлекс пассивного избегания. Основная исследовательская парадигма, использованная в работе – условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ). Он является

базисной методикой изучения препаратов, влияющих тем или иным образом на обучаемость и память, и позволяет выявлять как улучшение памяти (ноотропный эффект), так и ее ухудшение (амнестический эффект). УРПИ основан на врожденном норковом рефлексе грызунов – стремлении к ограниченному затемненному пространству. Выработку УРПИ у крыс проводили по методике R. Adera et al. [6] на приборе «Lafayette Instrument Co» (США).

Крысу сажали на ярко освещенную платформу (250x70 мм) хвостом к квадратному отверстию (60x60 мм), снабженному гильотинной дверью и ведущему в камеру (400x400x400 мм) с электродным полом. Вследствие норкового рефлекса после обнаружения входа в темный отсек крыса переходила в него и стремилась находиться там большую часть времени. Регистрировали латентный период первого захода в затемненное отделение, а затем в течение 180 с от момента помещения животного в экспериментальную камеру отмечали суммарное время пребывания в темном отсеке. По истечении 180 с в момент, когда крыса оказывалась в затемненном отделении, отверстие закрывали и наносили животному неизбежное электрошоковое раздражение через пол (5 ударов, сила тока – 0,45 мА, длительность каждого импульса составляла 1 с, интервал между последовательными импульсами – 2 с).

При воспроизведении УРПИ через 24 ч после обучения крысу сажали на платформу хвостом к отверстию и регистрировали латентный период захода животного в темное отделение, а затем в течение 180 с отмечали суммарное время пребывания в темном отсеке и на висячей платформе.

Введение веществ. Крысы были случайным образом разделены на 5 групп по 10 животных в каждой группе. Животным 1-й и 2-й групп в течение 7 дней вводили ДХС в дозе 25 мг/кг веса внутримышечно (в/м); 3-я, 4-я и 5-я группы получали дистиллированную воду в/м в эквивалентном объеме. На следующий день эксперимента проводили обучение УРПИ в сочетании с двумя типами амнестических воздействий (рис. 1):

- 1) амнезия УРПИ, вызванная введением скополамина – крысам 1-й и 3-й групп за 30 мин до обучения УРПИ вводили скополамин (блокатор мускариновых типа холинорецепторов) в дозе 1,3 мг/кг веса внутривентриально (в/б);
- 2) амнезия УРПИ, вызванная действием максимального электрошока (МЭШ) – крысам 2-й и 4-й групп непосредственно после обучения УРПИ наносился электросудорожный шок через электроды, наложенные на роговицу глаз (15–20 мА, 200–500 мс).

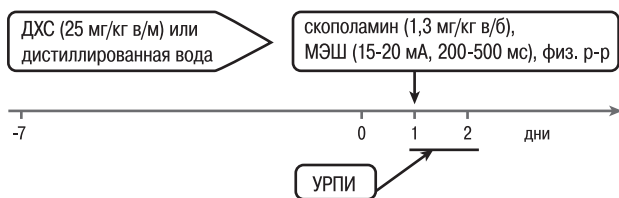


рис. 1: Схема эксперимента по изучению антиамнестической активности ДХС в тестах амнезии УРПИ.

Воспроизведение рефлекса во всех группах проводили через 24 час после обучения.

Учитывая наличие индивидуальных различий в исходной выраженности норкового рефлекса и в степени обученности каждого животного, наряду с измерением абсолютной величины латентного периода захода в темную камеру при тестировании вычисляли также прирост этого показателя при тестировании (ЛП₂) по сравнению с 1-м днем (ЛП₁) по формуле:

$$\Delta \text{ЛП} = \text{ЛП}_2 - \text{ЛП}_1.$$

С целью сравнения выраженности антиамнестического эффекта ДХС на обеих моделях амнезии вычисляли относительный показатель антиамнестического эффекта (А_э) по формуле:

$$A_{\text{э}} = (\text{Л}_{\text{ДХС}} - \text{Л}_{\text{амнезия}}) / (\text{Л}_{\text{контроль}} - \text{Л}_{\text{амнезия}}) \times 100\%,$$

где Л_{ДХС} – латентность захода в темную камеру группы крыс, получавшим ДХС; Л_{контроль} – среднее латентное время захода в темную камеру крыс группы пассивного контроля, Л_{амнезия} – латентность захода в группе, которой либо вводился скополамин перед обучением, либо наносился электрошок после обучения.

Результаты и обсуждение

Во всех сериях экспериментов введение скополамина вызывало стабильный и воспроизводимый результат:

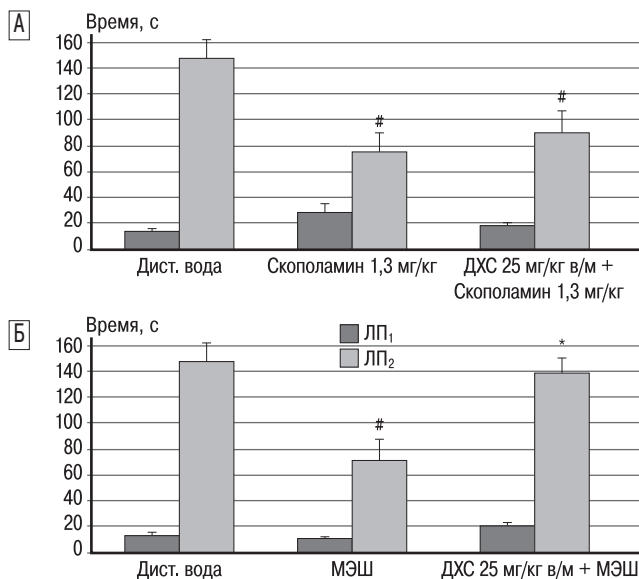


рис. 2: Эффект ДХС в тесте скополаминовой амнезии (А) и амнезии, вызванной МЭШ (Б).

По оси абсцисс:

А. Дистиллированная вода. Пассивный контроль с введением дистиллированной воды, n=10; Скополамин. Активный контроль – скополамин 1,3 мг/кг, n=10; ДХС 25 мг/кг + скополамин 1,3 мг/кг, Дихолина Сукцинат (25 мг/кг), 7 дней + скополамин 1,3 мг/кг, n=10.

Б. Дистиллированная вода. Пассивный контроль с введением дистиллированной воды, n=10; МЭШ. Активный контроль – максимальный электрошок, n=10; ДХС 25 мг/кг + МЭШ. Дихолина Сукцинат (25 мг/кг), 7 дней + МЭШ, n=10.

По оси ординат:

Время, с. ЛП₁ – абсолютная величина латентного периода захода в темную камеру в первый день; ЛП₂ – абсолютная величина латентного периода захода в темную камеру при тестировании.

p < 0,05 – достоверность различий относительно пассивного контроля;

* p < 0,05 – достоверность различий относительно активного контроля.

у животных наблюдалась выраженная амнезия навыка, выработанного УРПИ, о чем свидетельствует укорочение латентного периода захода в темную камеру при воспроизведении навыка (рис. 2А). При субхроническом введении ДХС в дозе 25 мг/кг в/м до обучения УРПИ при его воспроизведении отмечалась тенденция к ослаблению амнестического эффекта скополамина, что выражалось в увеличении латентного времени захода крыс в темную камеру по сравнению с группой животных, получавших только скополамин (рис. 2А).

Корнеальный электрошок, нанесенный непосредственно после обучения, вызывал четкий амнестический эффект у контрольной группы крыс (рис. 2Б). Субхроническое введение ДХС в дозе 25 мг/кг в/м достоверно ослабляло выраженность шоковой амнезии, увеличивая латентное время захода в темную камеру в 2 раза (рис. 2Б).

Таким образом, ДХС при субхроническом введении в дозе 25 мг/кг в/м обладает выраженным антиамнестическим

действием в тесте амнезии УРПИ, индуцированной МЭШ, и имеет характер тенденции при амнезии, вызванной введением скополамина. Об этом свидетельствуют коэффициенты антиамнестического действия вещества: для скополаминовой амнезии – 30%, а для амнезии, вызванной максимальным электрошоком, – 78%.

Проведенные эксперименты показали перспективность ДХС в качестве кандидатного соединения для лечения расстройств памяти различного генеза (поскольку это показано в различных моделях амнезии), что немаловажно в связи с ключевым значением данного симптома при таком распространенном нейродегенеративном заболевании, как БА.

Это направление заслуживает дальнейших исследований, нацеленных на разработку и внедрение в практику новых подходов к лечению заболеваний, ассоциированных с пожилым возрастом.

Список литературы

1. *Власенко А.Г., Моррис Д.К., Минтон М.А.* Регионарная характеристика накопления бета-амилоида на доклинической и клинической стадиях болезни Альцгеймера. *Анн. клин. и эксперим. неврол.* 2010; 4: 10–14.
2. *Завалишин И.А., Переседова А.В.* Рассеянный склероз: современная концепция патогенеза и патогенетического лечения. *Анн. клин. и эксперим. неврол.* 2007; 1: 32–40.
3. *Рычихин В.М., Сариев А.К., Помяткин И.А.* Противосудорожный эффект дихолина сукцината на моделях первично-генерализованной эпилепсии у мышей. *Эксперим. клин. фармакол.* 2013; 3: 31–35.
4. *Сариев А.К., Рычихин В.М., Помяткин И.А., Воронина Т.А.* Противопаркинсоническое действие дихолина сукцината на

модели МФТП-индуцированного паркинсонизма. *Анн. клин. и эксперим. неврол.* 2011; 4: 33–36.

5. *Суслина З.А., Иллариошкин С.Н., Пирадов М.А.* Неврология и нейронауки – прогноз развития. *Анн. клин. эксперим. неврол.* 2007; 1: 5–9.

6. *Ader R., Weijnen W., Moleman P.* Retention of a passive avoidance response as a function of the intensity and duration of electric shock. *Psychon. Sci.* 1972; 26: 125–128.

7. *Hoyer S.* Glucose metabolism and insulin receptor signal transduction in Alzheimer disease. *Eur. J. Pharmacol.* 2004; 1–3: 115–125.

8. *Rivera E.J., Goldin A.* Insulin and insulin-like growth factor expression and function deteriorate with progression of Alzheimer's disease: link to brain reductions in acetylcholine. *J. Alzheimer's Dis.* 2005; 8: 247–268.

Antiamnestic effect of dicholine succinate on models of amnesia caused by using scopolamine or electric irritation

A.K. Sariev, V.M. Rychikhin, D.A. Abaimov

*Research Center of Neurology RAMS;
V.V. Zakusov Institute of Pharmacology RAMS (Moscow)*

Keywords: dicholine succinate, antiamnestic effect, scopolamine, electric irritation, conditional reflex of passive avoidance.

We studied antiamnestic properties of dicholine succinate on models of amnesia caused by using scopolamine or electric irritation in the test of conditional reflex of passive avoidance. The experiments were carried out on outbreed male rats. It was shown that sub-chronic introduction of dicholine succinate in

the dose of 25 mg/kg per day was characterized by a significant antiamnestic effect. The effect of dicholine succinate in amnesia caused by electric irritation was greater compared to that in the amnesia model caused by scopolamine.

Контактный адрес: Сариев Абрек Куангалиевич – докт. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. клинической фармакокинетики ФГБУ «НЦН» РАМН. 125367 Москва, Волоколамское ш., д. 80. E-mail: danisarov@mail.ru;

Рычихин В.М. – науч. сотр. лаб. нейрoхимии ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН;

Абаимов Д.А. – науч. сотр. лаб. клинической фармакокинетики ФГБУ «НЦН» РАМН.