

Citidin 5'-Difosfoholin - Neuroprotektivna uloga u glaukomu

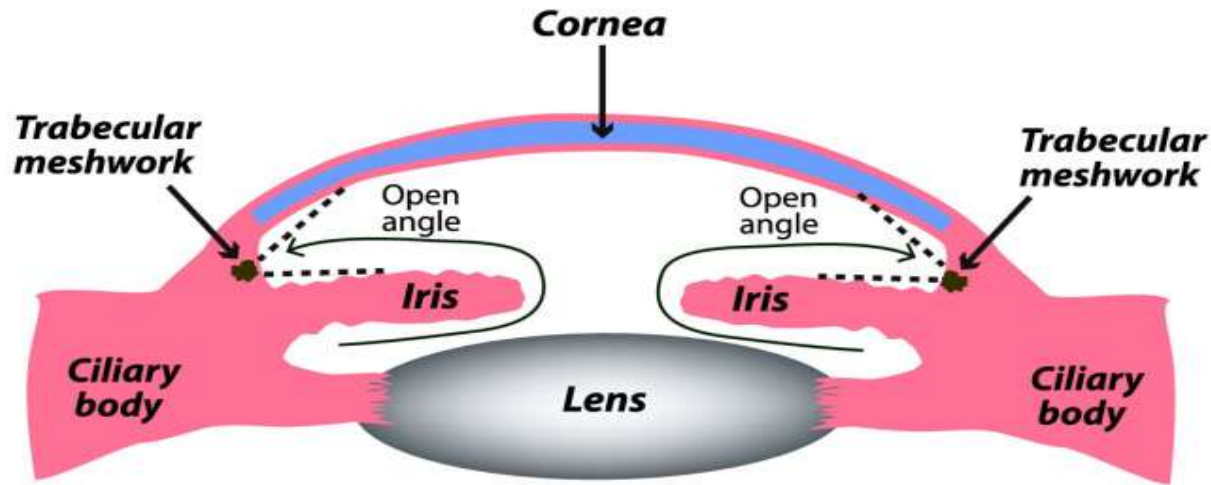
Dr Ana Pavlović

Prof dr Dušan Djurić

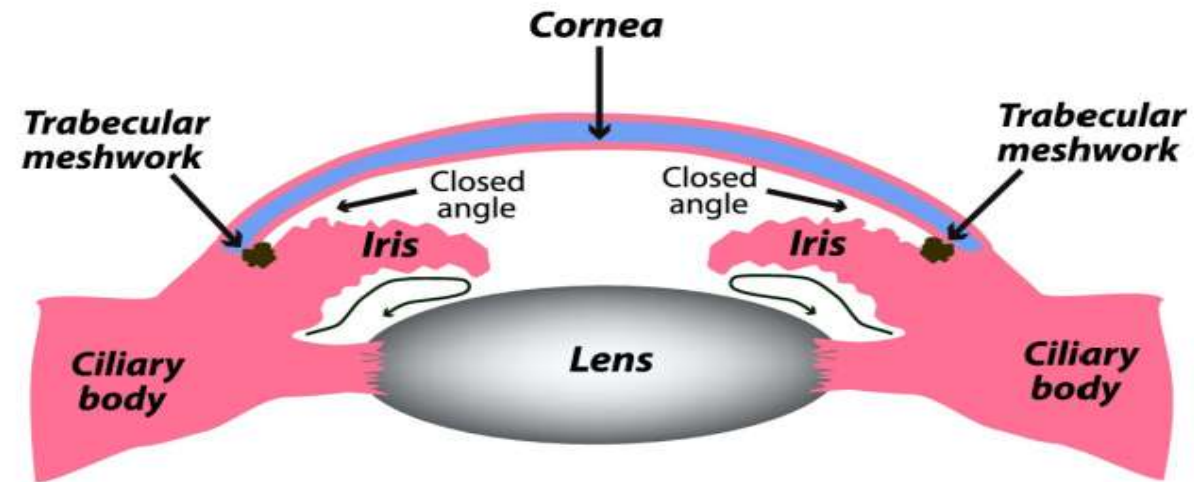
Glaukom

- Glaukom je heterogen skup progresivno degenerativnih optičkih neuropatija sa zajedničkim karakteristikama koje uključuju:
 - gubitak retinalnih ganglijskih ćelija (*retinal ganglion cells*, RGC) i
 - tipične deficite vidnog polja koji mogu napredovati do slepila.
- Globalna prevalencija:
 - najčešćeg oblika, primarnog glaukoma otvorenog ugla (*Primary open-angle glaucoma*, POAG), iznosi približno 3,1%,
 - u poređenju sa oko 0,5% za primarni glaukom zatvorenog ugla (*Primary angle closure glaucoma*, PACG).
- Muškarci imaju nešto verovatnije da imaju POAG nego žene, kao i ljudi afričkog porekla u poređenju sa Evropljanima.
- **Glaukom je vodeći uzrok ireverzibilnog slepila širom sveta.**

TYPES OF GLAUCOMA



OPEN-ANGLE GLAUCOMA

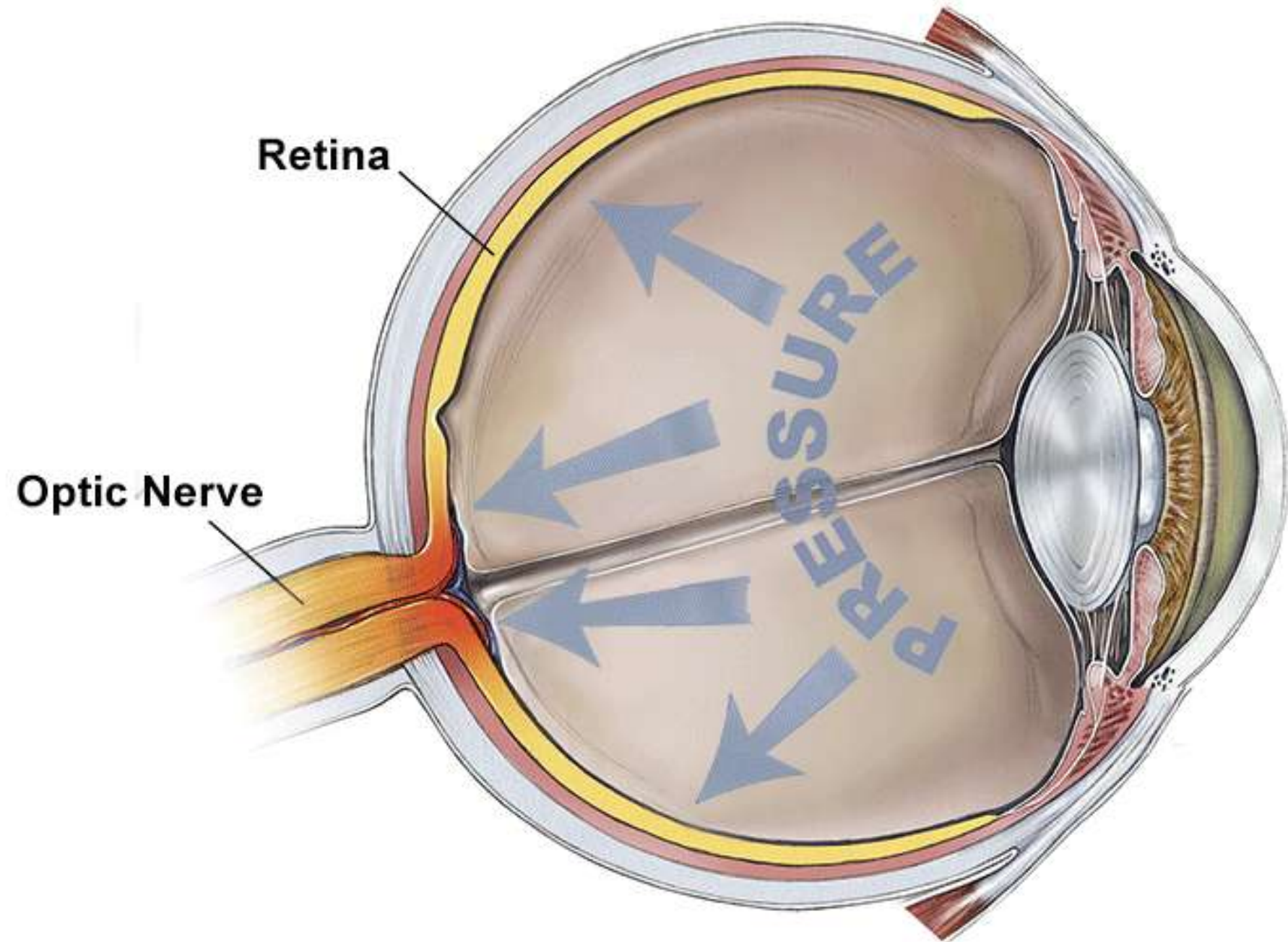


ANGLE-CLOSURE GLAUCOMA

Povišeni intraokularni pritisak

- Iako se povišeni intraokularni pritisak (*intraocular pressure*, IOP), takođe poznat kao očna hipertenzija, smatra najvažnijim faktorom rizika za POAG koji se može promeniti i ostaje glavna terapijska meta u lečenju glaukoma, uključeni su i drugi faktori koji mogu da modifikuju tok bolesti, i kontrola IOP-a ne zaustavlja progresiju glaukoma.
 - Retrospektivna studija sprovedena na oftalmološkom odeljenju referentne Univerzitetske bolnice u Švedskoj otkrila je da se, nakon srednjeg trajanja dijagnoze od 12 godina, monokularno slepilo pojavilo kod 42,2%, a binokularna kod 16,4% od 592 pacijenta koji su umrli između 2006. i 2010.

Peters, D.; Bengtsson, B.; Heijl, A. Lifetime risk of blindness in open-angle glaucoma. Am. J. Ophthalmol. 2013, 156, 724–730.
- Analiza dugoročnih trendova gubitka vida uzrokovanog glaukomom sugeriše da su faktori rizika koji nisu IOP važni u patogenezi oštećenja neurona povezanih sa glaukomom.



Asimptomatska bolest

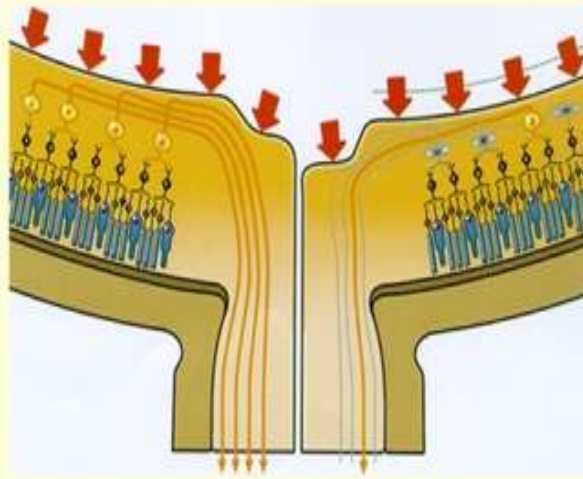
- Neotkrivena ili asimptomatska bolest je glavni deo kontinuuma glaukoma, a značajan deo pacijenata sa glaukomom ostaje nedijagnostikovano.
- **Rano otkrivanje** tokom rutinskih oftalmoloških pregleda važno za identifikaciju rizičnih subjekata pre nego što se simptomi manifestuju.
- Neophodno je blagovremeno započinjanje efikasnih intervencija pre nego što gubitak vida napreduje.
- Farmakološki tretman trenutno prvenstveno rezervisan za pacijente sa simptomatskim glaukomom.
- Kao rezultat toga, glaukomatozna optička neuropatija i oštećenje vida su već prisutni kada se lečenje započne.

Patofiziologija glaukoma

- Glaukom je kompleksna, multifaktorska **degenerativna optička neuropatija** koju karakteriše:
 - **RGC (*retinal ganglion cells*) smrt** i
 - **nepovratan gubitak vida u perifernom i centralnom vidnom polju.**
- Iako je nivo IOP-a povezan sa smrću od RGC-a, oštećenje nerva se može nastaviti čak i kada se pritisak prati i leči.
- Glaukomatozna optička neuropatija je evidentna i kod osoba sa IOP u granicama normale.

Glaucomatous Optic Neuropathy (GON) implies:

- loss of cells
- tissue remodeling

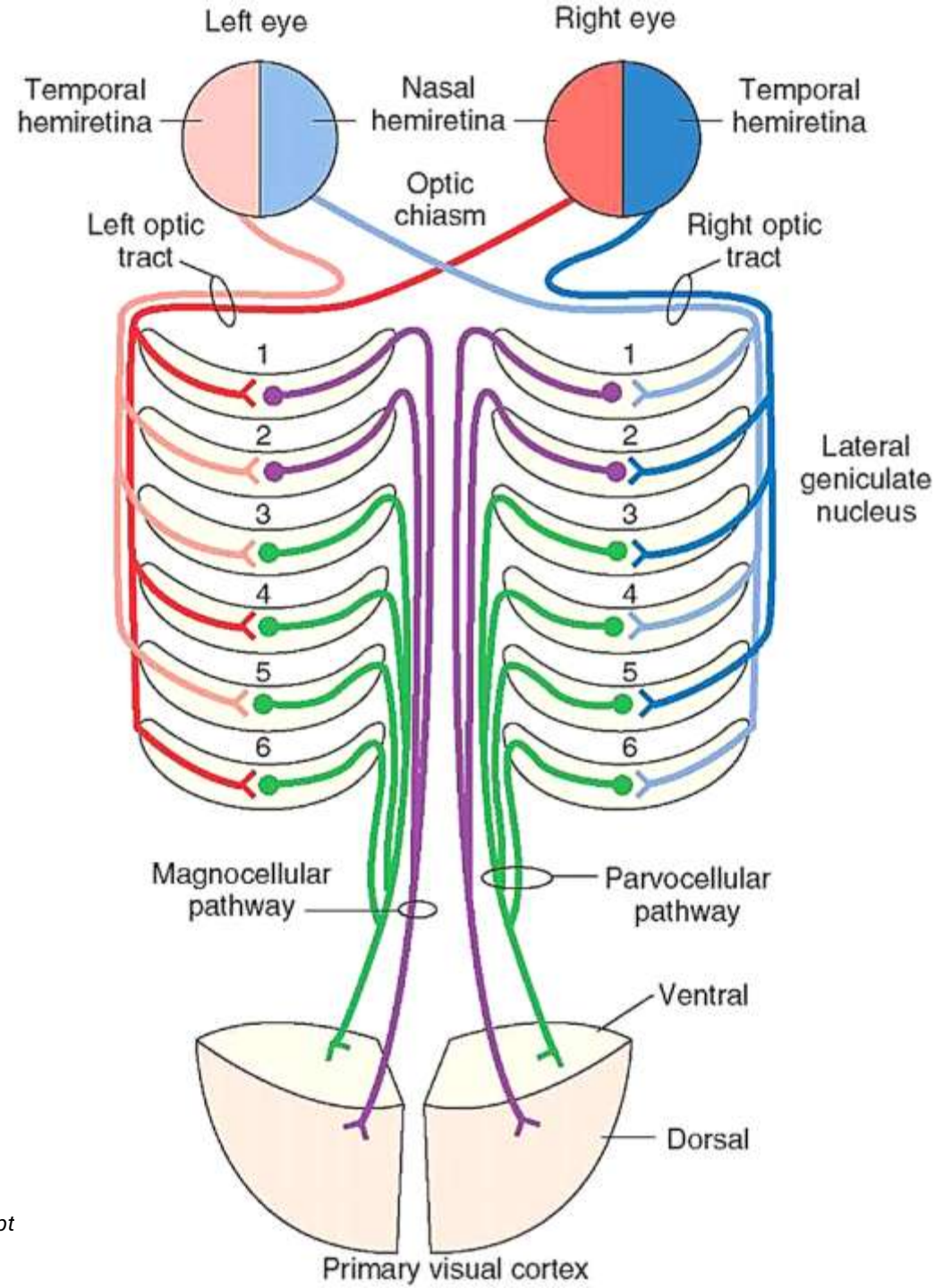


Životinjski modeli I/III

- U životinjskim modelima sa jednostranim eksperimentalno izazvanim glaukomom, oštećenje centralnog neurona je ograničeno na stranu glaukomatoznog oka.
 - Oštećenje unutrašnjih slojeva mrežnjače može se pojaviti rano u prirodnoj istoriji glaukoma, što prethodi nastanku defekta vidnog polja, i praćeno oštećenjem vezanim za transsinaptičku degeneraciju u postretinalnim vizuelnim putevima, posebno na nivou lateralnog genikulatnog jezgra.
 - Na osnovu eksperimentalnih modela, predlaže se da se glaukom može smatrati bolešću koja zahvata ne samo **očne strukture** već i **narušen integritet vizuelnih moždanih struktura**.

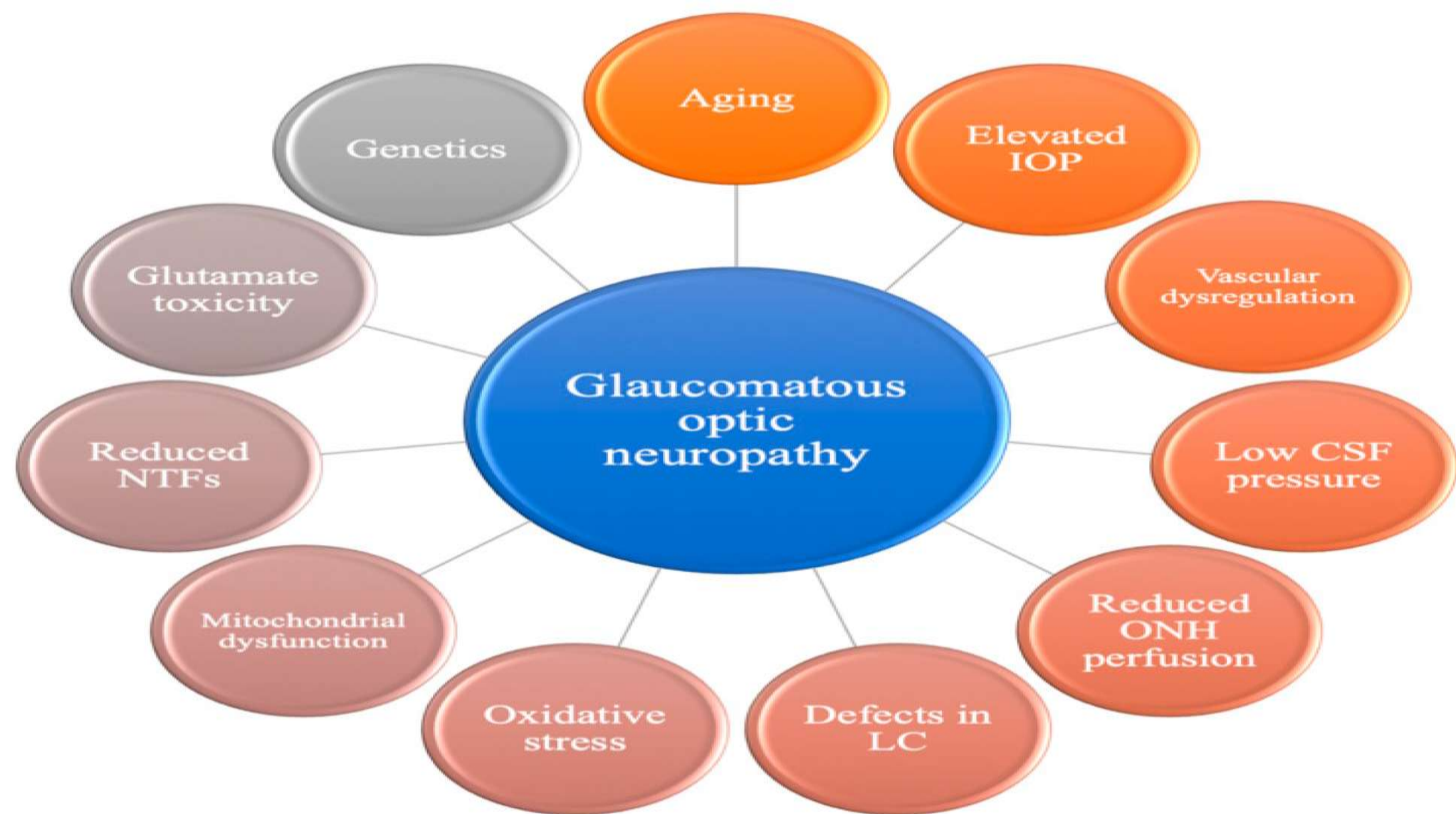
Životinjski modeli II/III

- Na životinjskim modelima glaukoma pokazano je da su broj i zapremina relejnih neurona, odgovornih za projektovanje na vizuelni korteks, smanjeni samo u lateralnom kolenastom telu (oka zahvaćenog glaukomom).
- Iako je povišen IOP bio povezan sa veličinom, gustinom i brojem neurona u lateralnom kolenastom telu ((*lateral geniculate nucleus (LGN; lateral geniculate body or lateral geniculate complex*))), oštećenje se javlja čak i kod umerenih nivoa intraokularne hipertenzije.
- Degenerativne promene u lateralnom kolenastom telu, atrofija intrakranijalnog optičkog nerva i istanjivanje vizuelnog korteksa, primećeni su kod ljudi, što pokazuje da su centralne neuralne promene usko povezane sa progresijom bolesti i oštećenjem optičke papile.



Životinjski modeli III/III

- Dokazi sa životinjskih modela sugerišu da je smrt RGC-a ključni patološki događaj u glaukomu.
- Intraokularna hipertenzija uzrokuje stres i opterećenje na zadnjim strukturama oka, što rezultira mehaničkim oštećenjem aksona RGC-a uzrokovanim kompresijom i deformacijom i poremećaj transporta duž aksona.
- Oštećeni RGC su zauzvrat odgovorni za sekundarnu degeneraciju susednih neuronskih ćelija u ekstracelularnom mikrokruženju putem procesa trans-sinaptičke degeneracije, koja se javlja u ranoj fazi glaukoma, i nije povezana samo sa povišenim IOP.
- Bez obzira na primarnu povredu, krajnji put je mitohondrijski posredovan proces programirane ćelijske smrti (apoptoze) koji rezultira ubrzanom smrću RGC-a.
- Apoptoza retinalnih ganglijskih ćelija je prepoznata kao rana manifestacija ćelijske smrti kod glaucoma.
 - Studija na pacijentima sa glaukomom otkrila je da do 36% RGC može biti izgubljeno pre normalni terenski testovi su u stanju da razlikuju defekte vidnog polja.



Patološki događaji koji dovode do optičke neuropatije

- Samo povišen IOP ne objašnjava u potpunosti gubitak RGC-a, a brojni događaji se mogu spojiti da bi izazvali degeneraciju RGC-a, uključujući:
 - **oštećenu mikrocirkulaciju,**
 - **oštećenje ishemije/reperfuzije,**
 - **oksidativni i/ili nitrozativni stres,**
 - **deprivaciju neurotrofičnog faktora rasta,**
 - **disfunkciju mitohondrijalne aktivnosti,**
 - **autoimunosti i neurotoksičnosti izazvane glutamatom** (glutamatna ekscitotoksičnost).
- Prošireno znanje o etiopatogenezi glaukoma i potreba za efikasnim ranim tretmanom kako bi se zaustavila progresija vizuelnih defekata podstakli su istraživanje novih terapijskih pristupa.

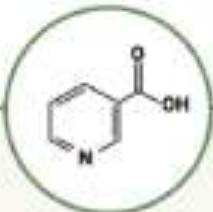


Neurotrophic factors

- NGF
- BDNF
- CNTF
- GDNF



Statins



Vitamin B3



Antioxidant agents

- *Ginkgo biloba*
- Resveratrol
- *Crocus sativus*
- Citicoline
- CoQ10

Neuroprotective Strategies in Glaucoma



NMDA receptor antagonists

- Dizocilpine maleate (MK801)
- Memantine
- Bis(7)-tacrine



α_2 -adrenergic agonist

- Brimonidine



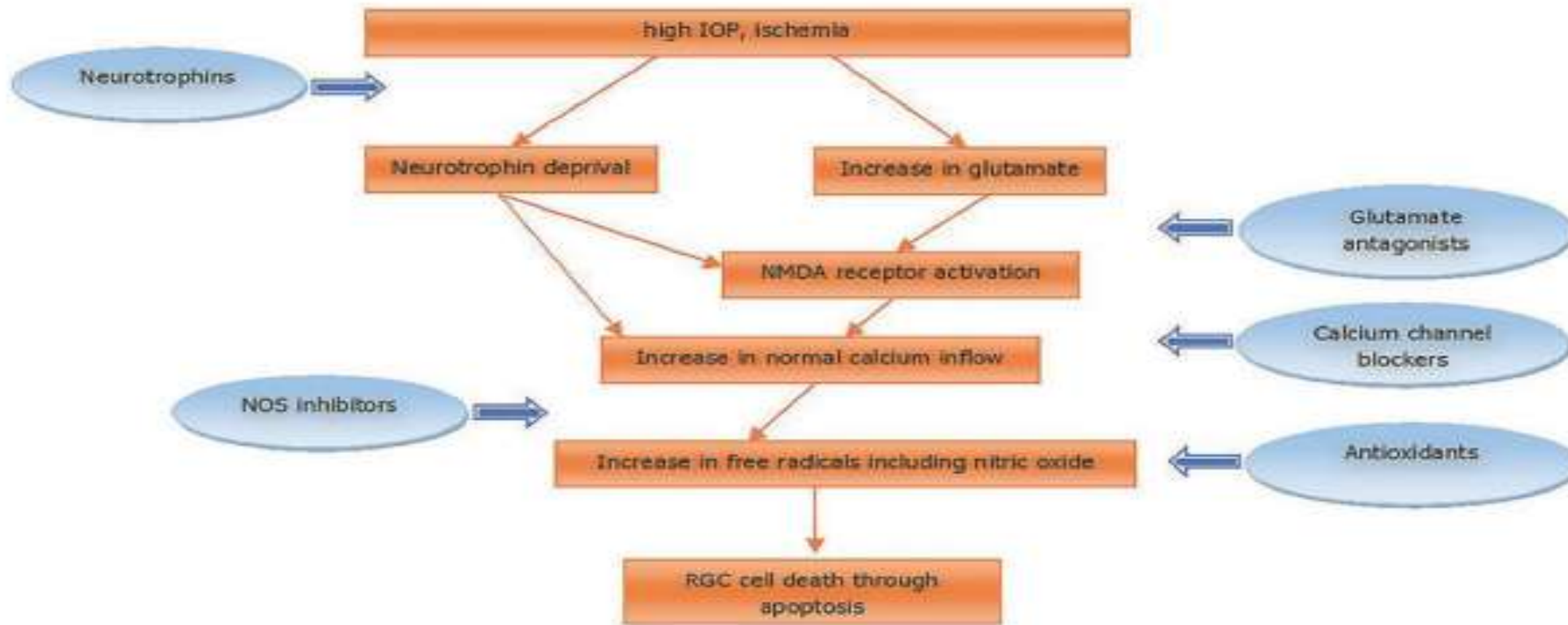
Calcium channel blockers

- Amlodipine
- Nimodipine
- Amiloride
- AMPA

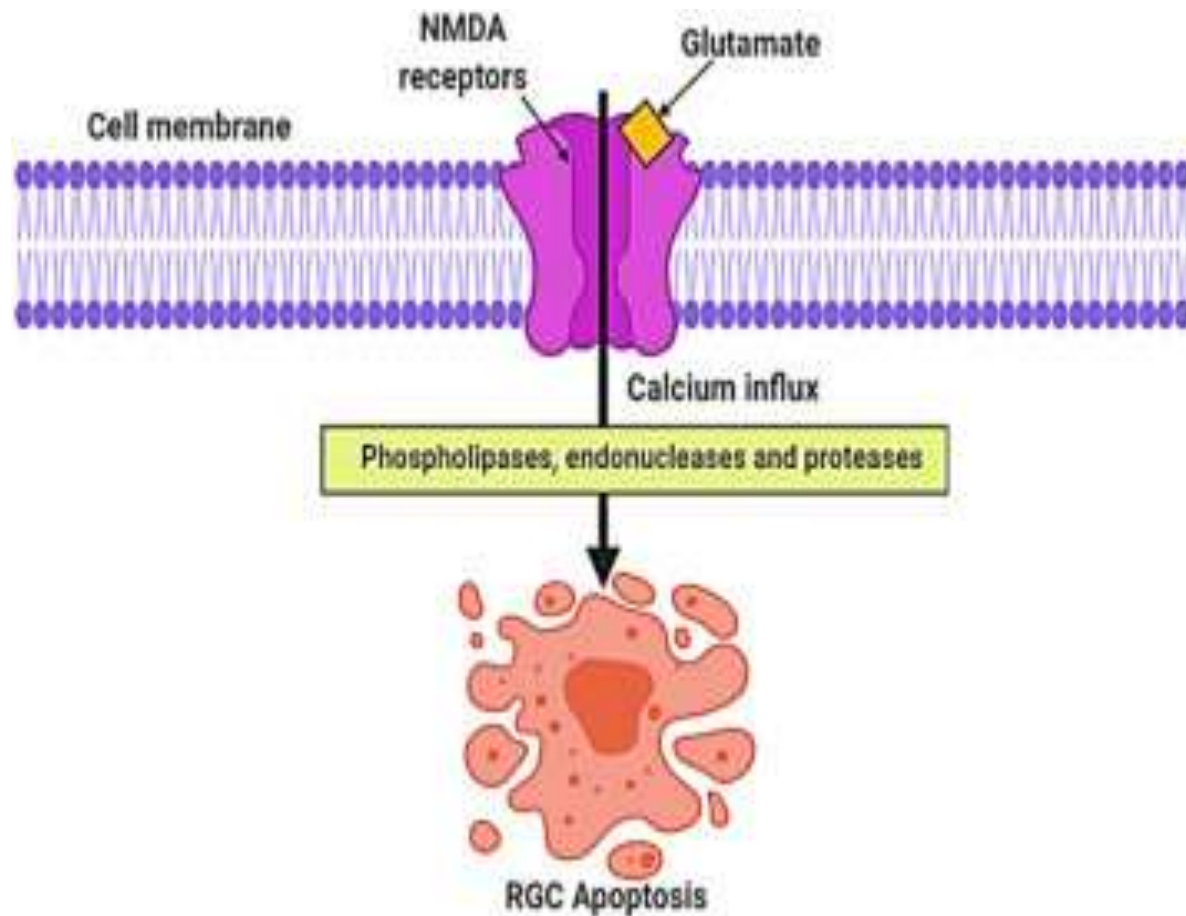
Neuroprotekcija kod glaukoma

- Ispitano je nekoliko biohemijskih puteva i farmakoloških ciljeva za potencijalnu neuroprotektivnu ulogu u glaukomu.
- Glutamat je istaknuti ekscitatorni neurotransmitter u retini, kao i u mozgu, a glutamatni receptori su prepoznati kao ključna farmakološka meta neuroprotektivnih lekova.
- RGC eksprimiraju različite glutamatne receptore.
- U uslovima apoptoze, nekontrolisana aktivacija glutamatnih receptora može dovesti do oslobađanja velikih količina u ekstracelularni region.
- U ovim okolnostima, **glutamat deluje kao neurotoksin**, što dovodi do sekundarne neurodegeneracije sa gubitkom RGC-a i oštećenjem drugih ćelija retine u kontinuitetu sa njima.

A proposed pathway of RGC death and presumed mechanisms of action of neuroprotective agents



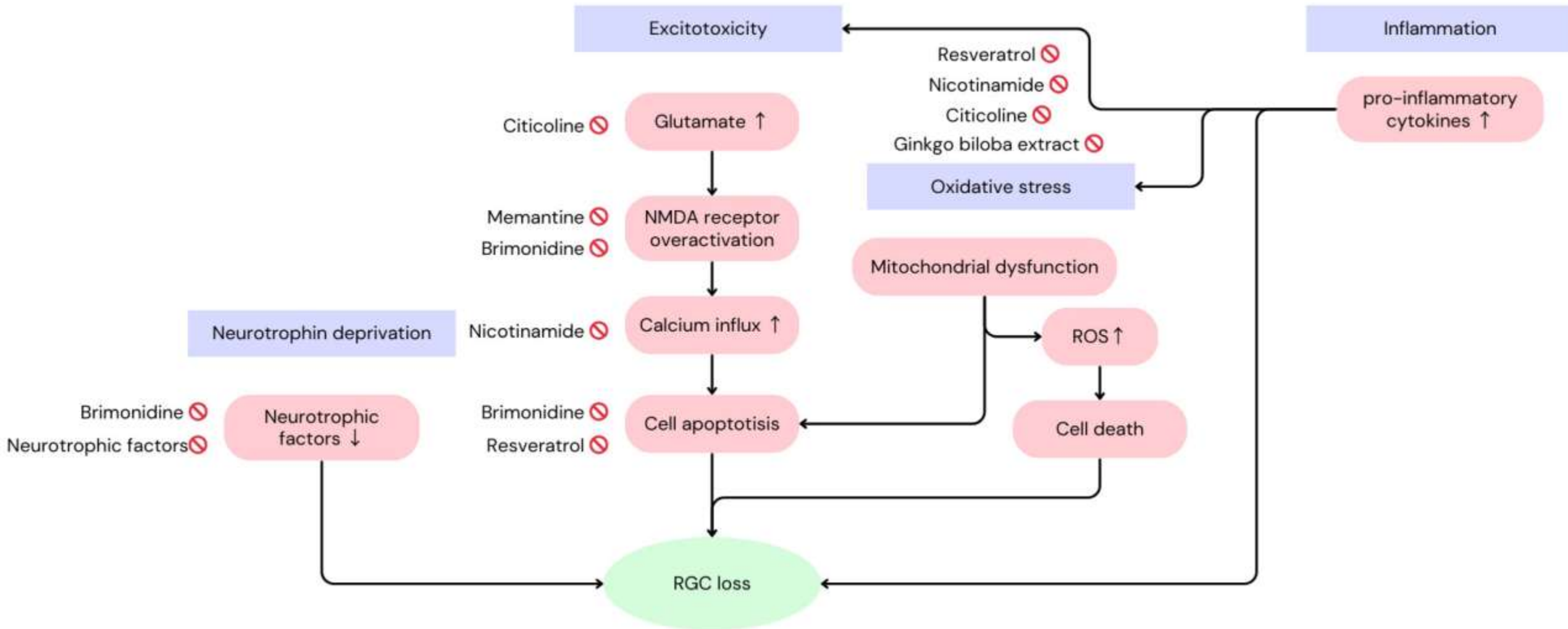
Neuroprotection: A versatile approach to combat glaucoma



- U većini bolesti mrežnjače, gubitak neurona je glavni uzrok gubitka vida.
- Neuroprotekcija je promena neurona i/ili njihovog okruženja kako bi se podstaklo preživljavanje i funkcionisanje neurona, posebno u sredinama koje su štetne po zdravlje neurona.
- Oblast neuroprotekcije napreduje sa terapijski zasnovanom nadom u poboljšanje vida i kliničkih ishoda za pacijente kroz razvoj:
 - **neurotrofične terapije,**
 - **antioksidativne terapije,**
 - **anti-ekscitotoksične,**
 - **antiishemične,**
 - **antiinflamatorne i**
 - **antiapoptotske nege.**

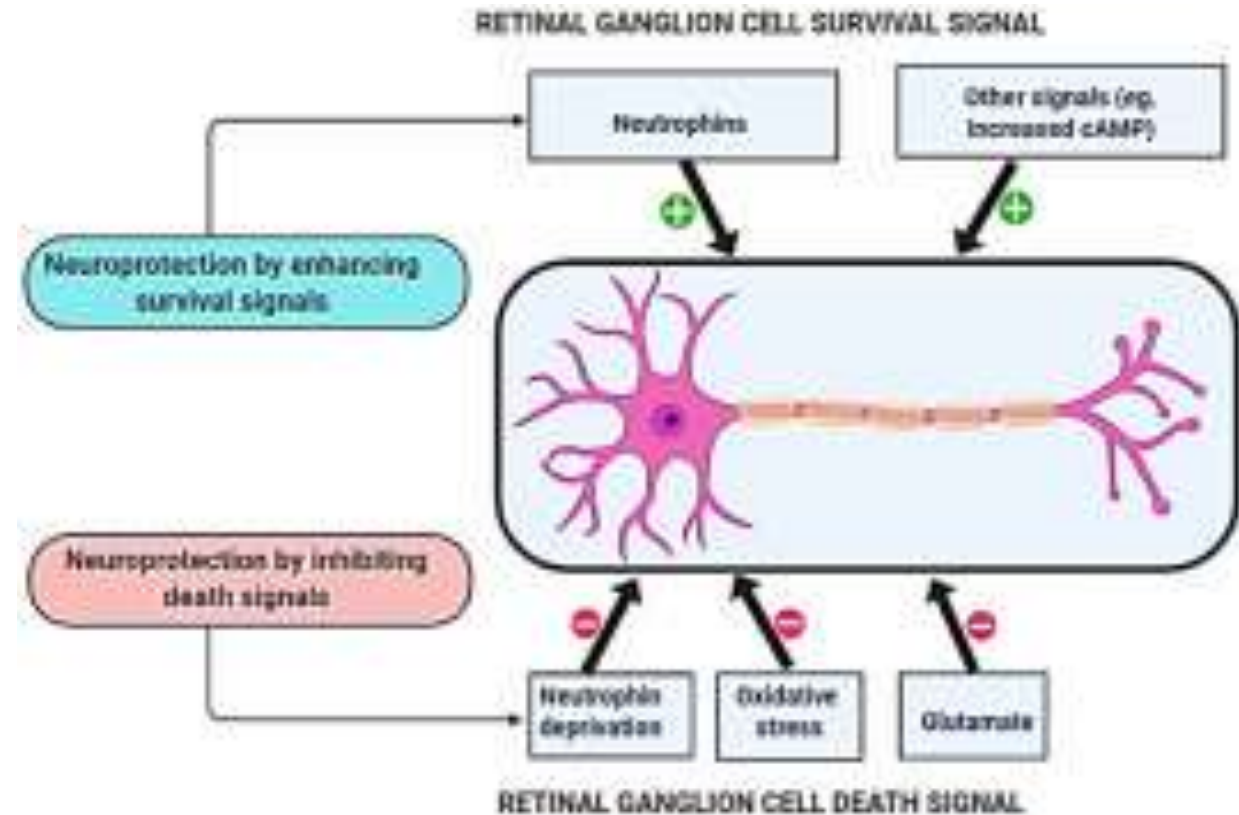
Santoshi Naik, Abhijeet Pandey, Shaila A. Lewis, Bola Sadashiva Satish Rao, Srinivas Mutalik, Neuroprotection: A versatile approach to combat glaucoma, European Journal of Pharmacology, Volume 881, 2020, 173208,

The mechanisms of glaucoma inducing the loss of retinal ganglion cells and the targets of



Mehanizmi gubitka retinalnih funkcija kod glaukoma

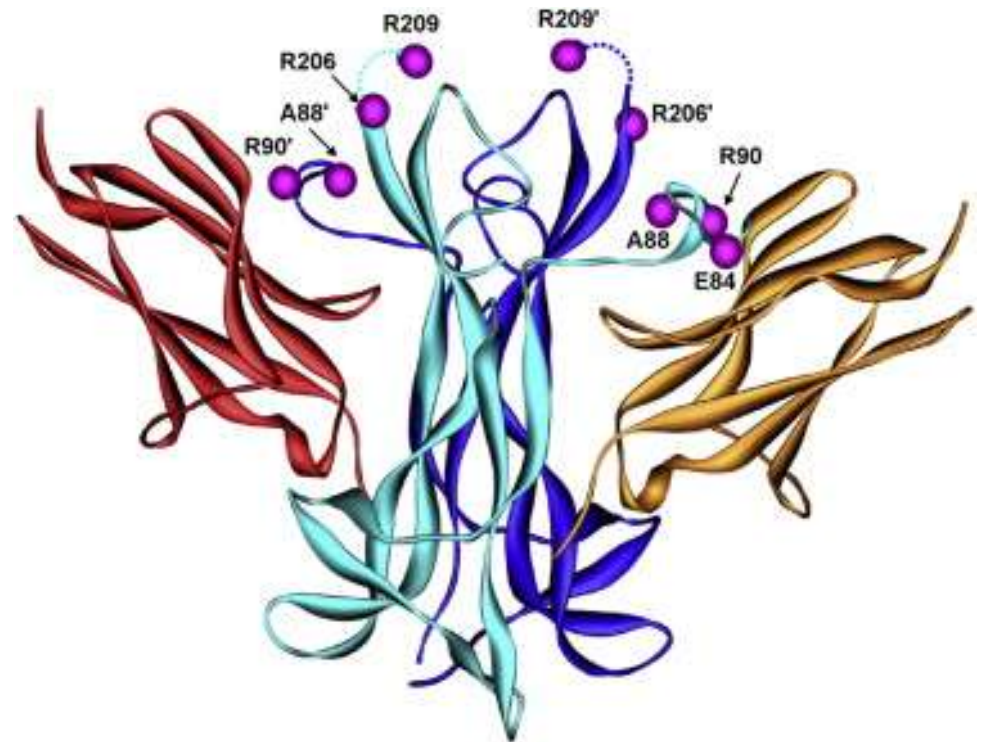
- Ključni mehanizmi koji leže u osnovi RGC smrti kod glaukoma uključuju složenu interakciju različitih patoloških procesa, uključujući:
 - **deprivaciju neurotrofina,**
 - **ekscitotoksičnost,**
 - **oksidativni stres,**
 - **mitohondrijalnu disfunkciju,**
 - **upalu i**
 - **apoptozu**



Neurotrofini

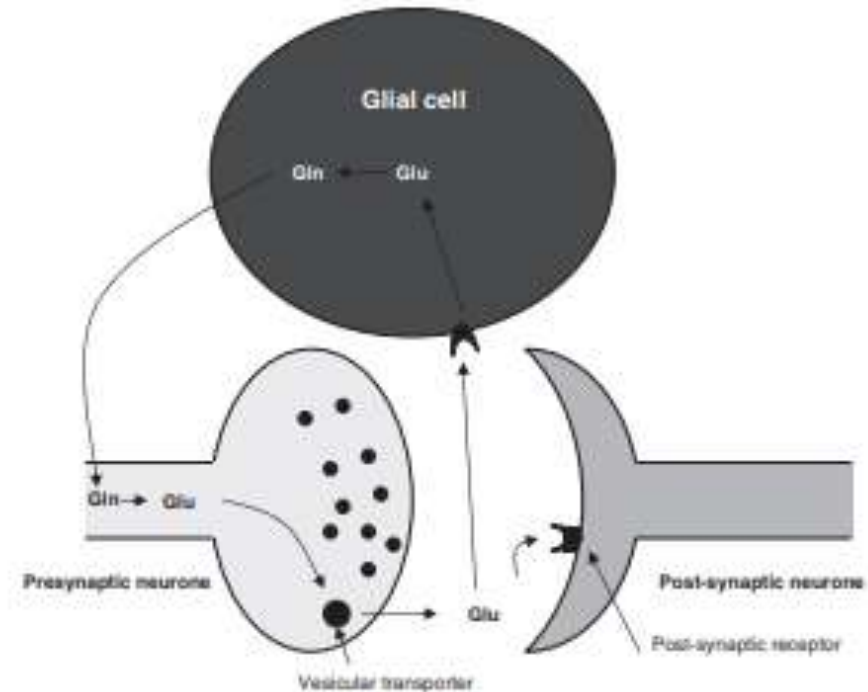
- Neurotrofini, kao što su cilijarni neurotrofični faktor (CNTF) i neurotrofni faktor koji potiče iz mozga (BDNF), ključni su u preživljavanju i održavanju RGC-a.
- Kod glaukoma, lišavanje ovih neurotrofina zbog poremećenog transporta aksona i ekspresije receptora dovodi do degeneracije RGC.

Lokacija mutacija u kristalnoj strukturi kompleksa NT-4-TrkB



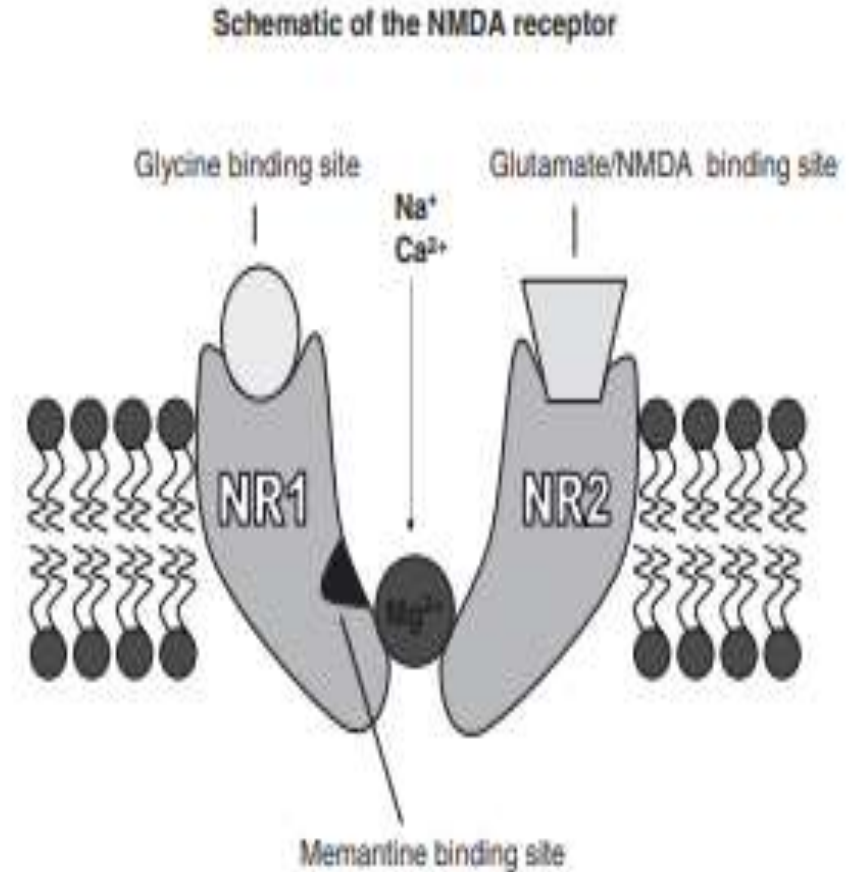
Ekscitotoksičnost

- Ekscitotoksičnost, prvenstveno izazvana povišenim nivoima neurotransmitera glutamata, dovodi do prekomerne aktivacije N-metil-D-aspartatnih (NMDA) receptora na RGC, izazivajući štetan priliv jona kalcijuma koji pokreće apoptotske puteve.
- Dok je uloga glutamata u glaukomu komplikovana i nije u potpunosti shvaćena, jasno je da njegoa disregulacija značajno doprinosi smrti RGC-a.



Possible role of excitotoxicity in the pathogenesis of glaucoma

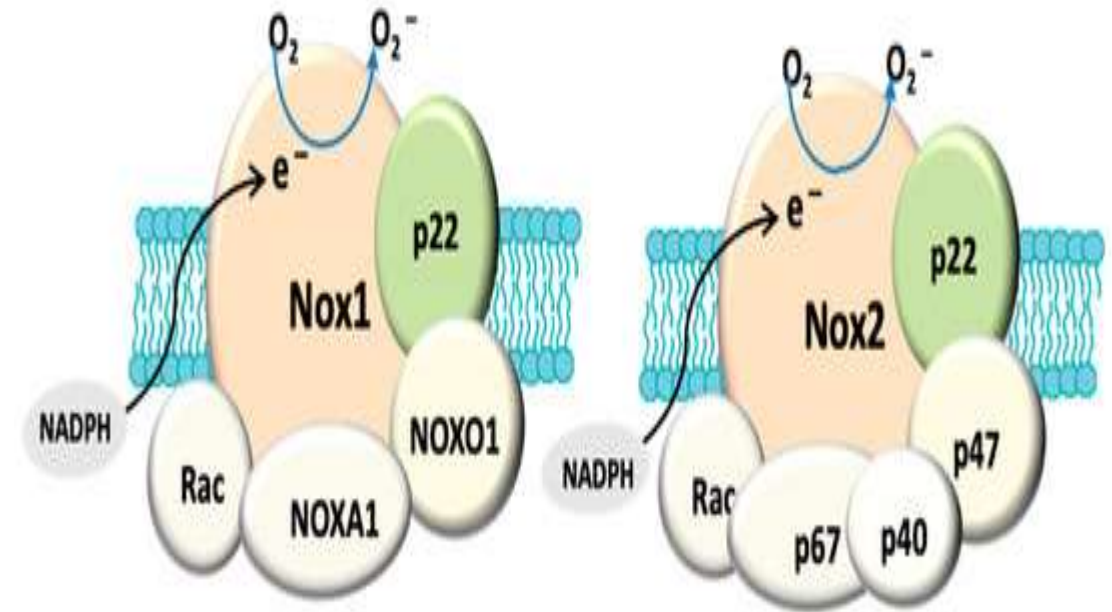
- Ekscitotoksičnost opisuje proces neuronske povrede prekomernom stimulacijom aminokiselinskih receptora.
- Ovaj oblik inzulta je prvi put opisan na mrežnjači, a kasnije se pokazalo da je važna komponenta patogeneze ishemijskih i traumatskih povreda u centralnom nervnom sistemu.
- Sve je više dokaza da je ekscitotoksičnost uključena u nekoliko hroničnih neuroloških stanja, a anti-ekscitotoksični tretman je već odobren za neka od ovih stanja.
- Trenutno je u toku veliko ispitivanje koje će utvrditi efikasnost anti-ekscitotoksičnog leka (memantina) u lečenju glaukoma.



Oksidativni stres

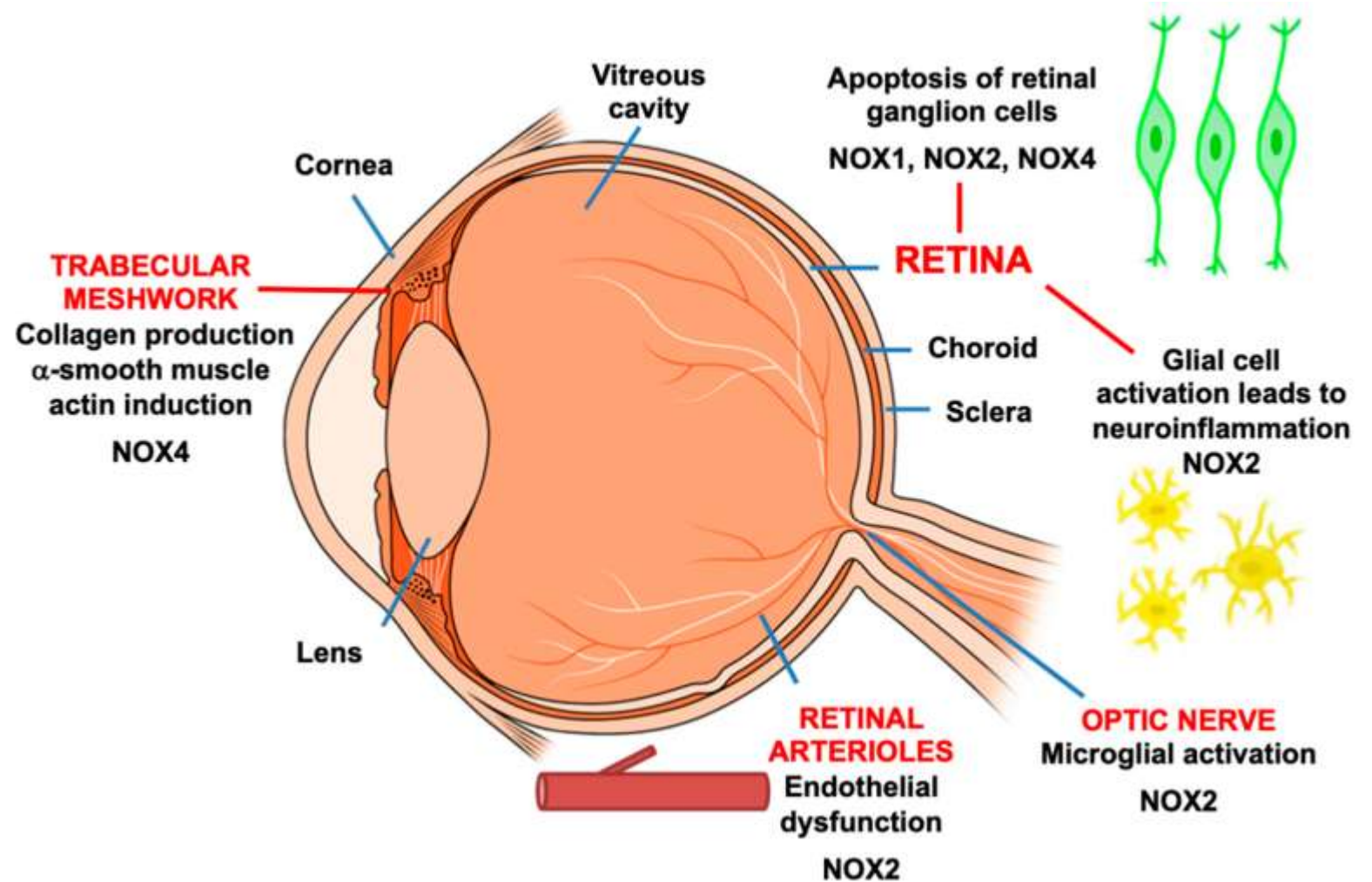
- Oksidativni stres je još jedan kritičan faktor u glaukomatoznoj neurodegeneraciji.
- Neravnoteža između proizvodnje reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) i antioksidativne odbrane tela dovodi do oksidativnog oštećenja ganglijskih ćelija retine (RGC), utičući na:
 - **proteine,**
 - **lipide i**
 - **DNK.**
- Ovaj oksidativni stres može biti pogoršan mitohondrijalnom disfunkcijom, pošto RGC imaju velike energetske zahteve, a svako oštećenje mitohondrijalne funkcije može dovesti do deficita energije, dodatno ugrožavajući vitalnost ćelija.
- Oslobađanje **citokroma c** iz oštećenih mitohondrija u citoplazmu je ključni događaj koji aktivira apoptotičku mašineriju u RGC-ima.

Strukturni sastav potpuno sastavljene NADPH oksidaze (NOX)



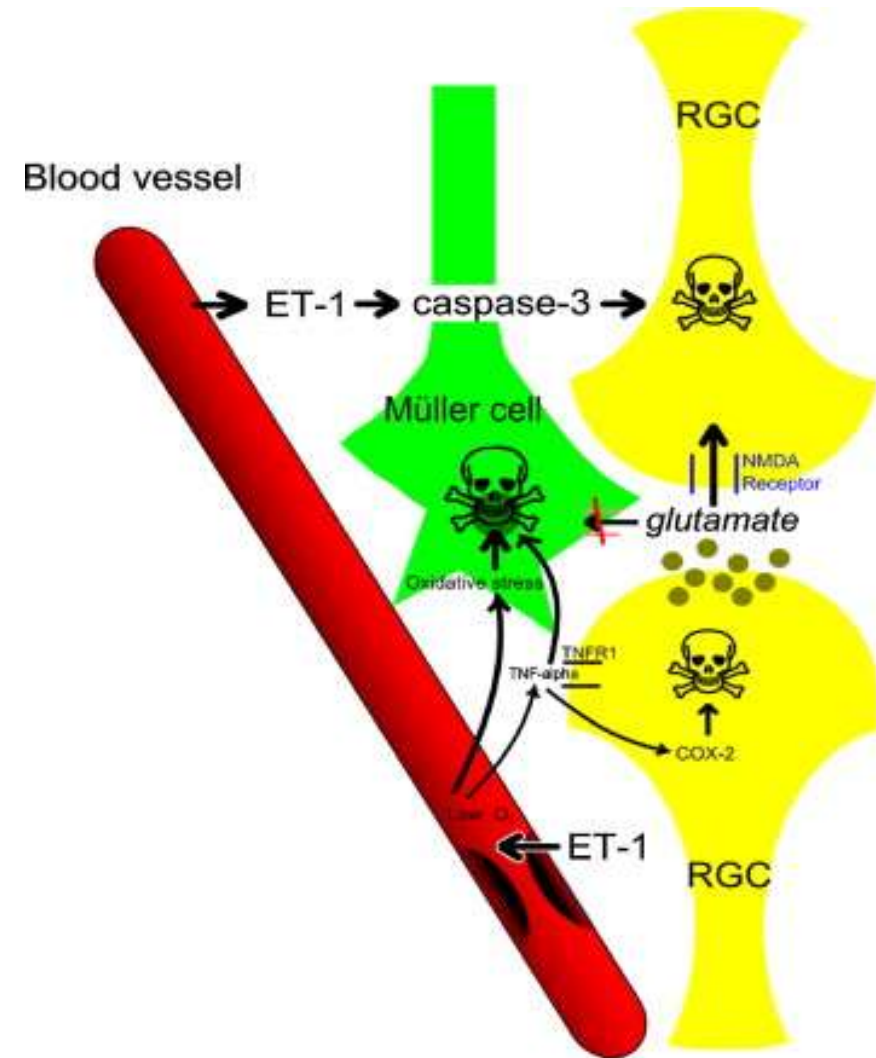
Ekspresija NADPH oksidaze u različitim delovima tkiva oka.

Eksperimentalni modeli glaukoma pružaju dokaze da indukcija NOX doprinosi ćelijskim procesima koji su važni u progresiji glaukoma.



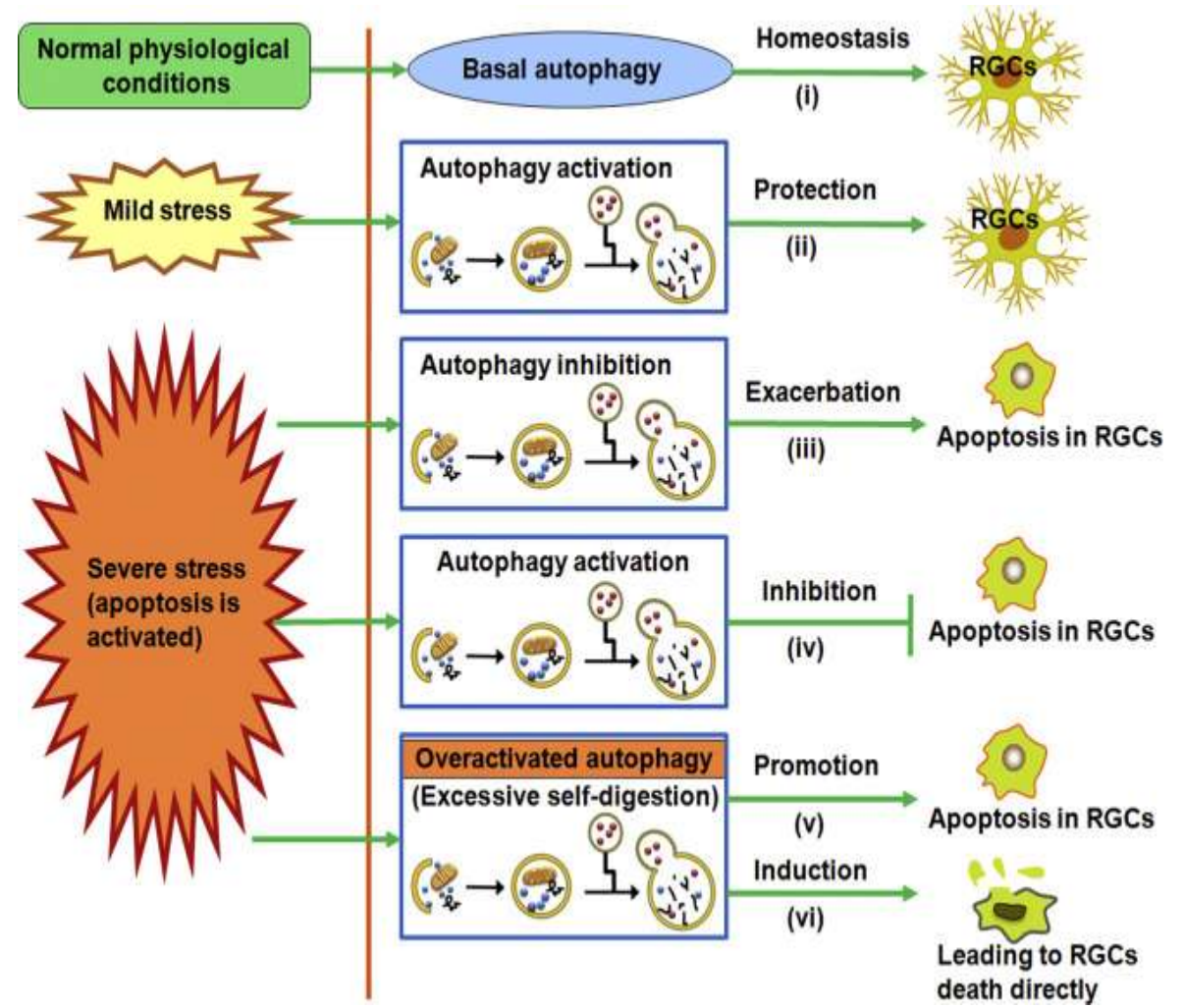
Upala

- Upala igra značajnu ulogu u glaukomu, pri čemu se proinflamatorni citokini poput faktora tumorske nekroze-alfa (TNF- α) pojačavaju u mrežnjači i glavi optičkog nerva.
- Ovi citokini mogu indukovati RGC apoptozu bilo direktno ili pogoršanjem ekscitotoksičnosti i oksidativnog stresa.
- Pored toga, glijalne ćelije u retini, uključujući astrocite, Milerove ćelije i mikrogliju, doprinose i zaštitnim i štetnim odgovorima kod glaukoma.
- Iako mogu pomoći u čišćenju ostataka i stvaranju neurotrofnih faktora, njihova prekomerna aktivacija može dovesti do hronične upale i daljeg oštećenja RGC-a.



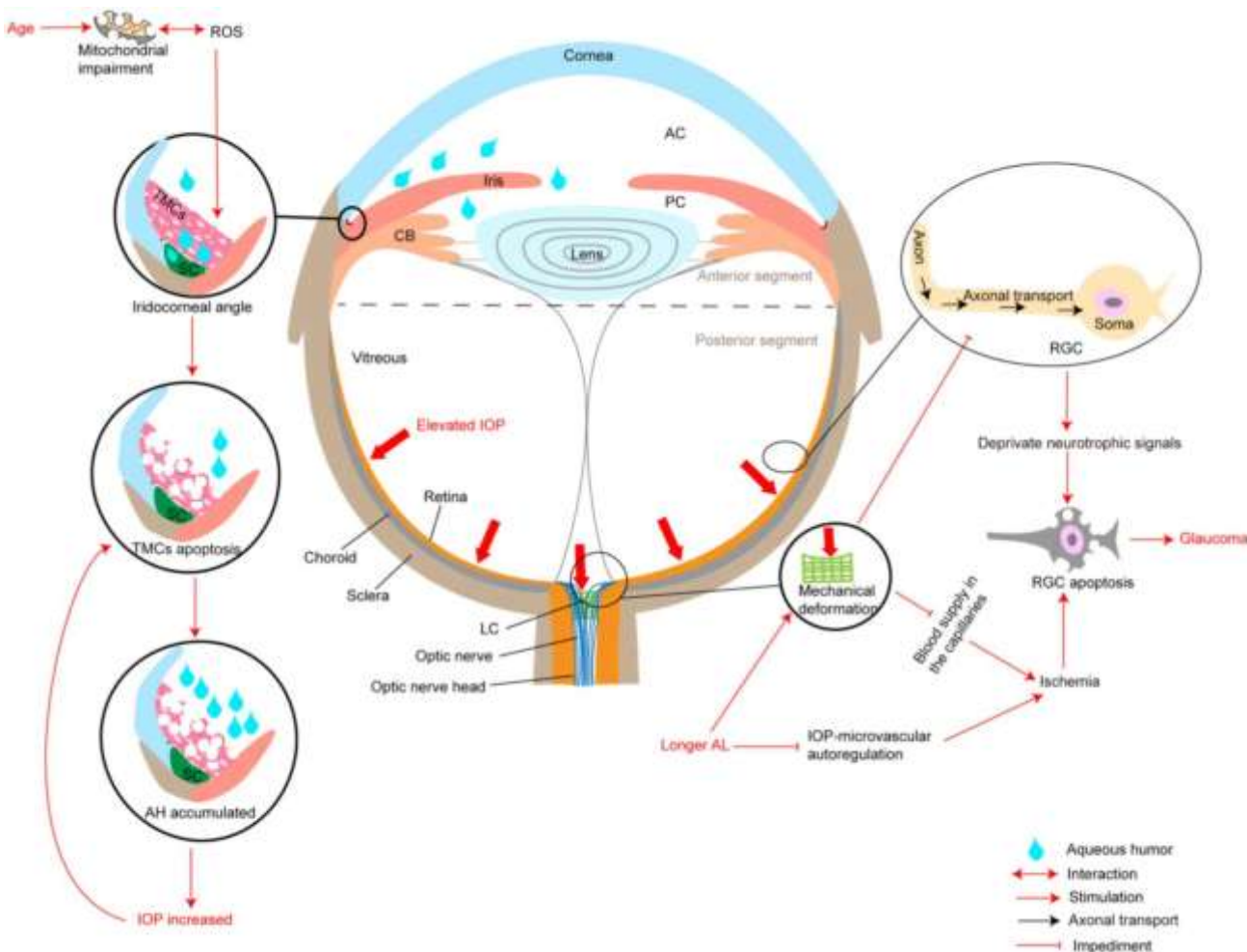
Apoptoza

- Apoptoza, ili programirana ćelijska smrt, je zajednički put kroz koji mnogi mehanizmi konvergiraju da izazovu gubitak RGC-a kod glaukoma.
- I unutrašnji i ekstrinzični apoptotički putevi se aktiviraju kao odgovor na različite stresore koji utiču na RGC.
- Ključni molekuli u ovim putevima uključuju Bcl-2 familiju proteina, koji kontrolišu permeabilnost mitohondrijalne membrane, i kaspaze, koje su izvršioci apoptoze.



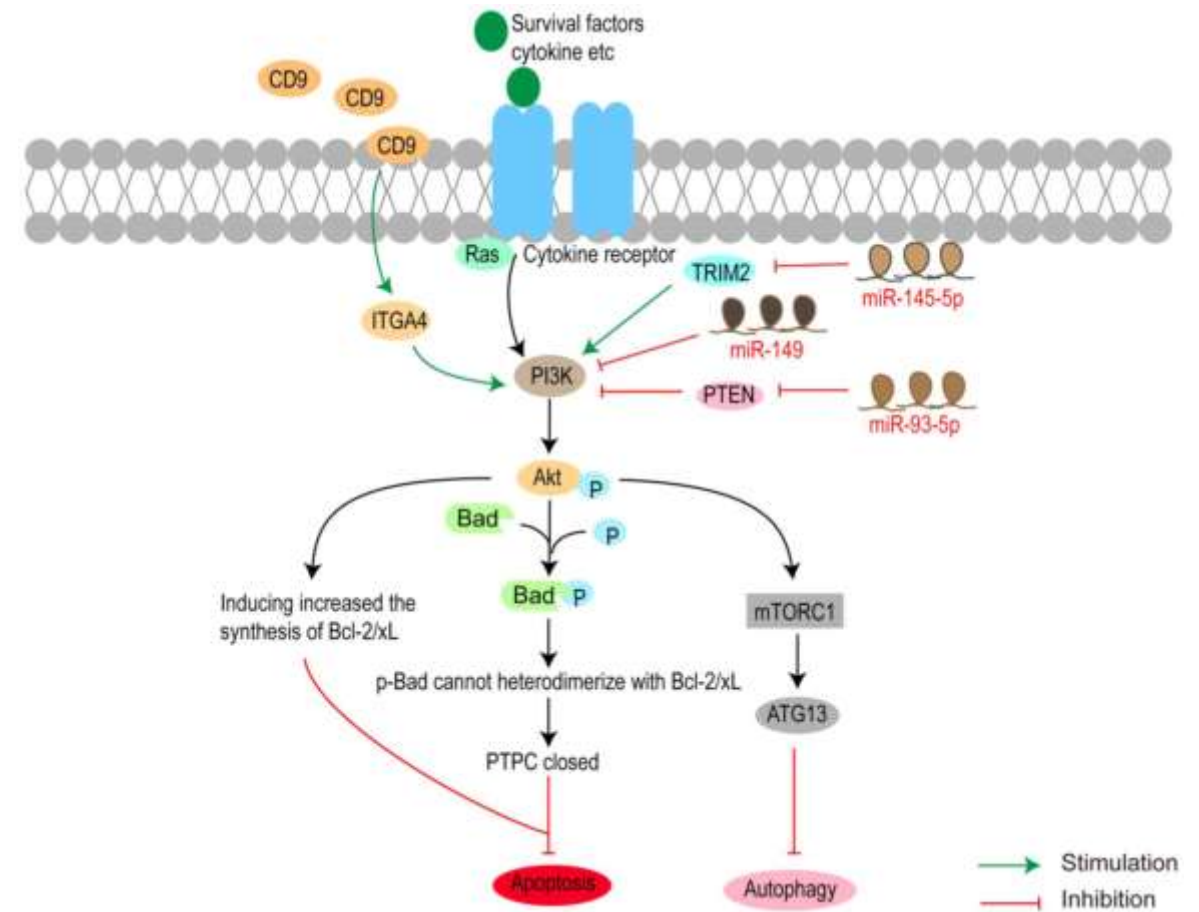
Elevated IOP, age and myopia play important roles in glaucoma.

As age increases, the production of mitochondrial ROS increases, which may exacerbate mitochondrial damage and induce oxidative stress-induced apoptosis of TMCs, leading to the accumulation of AH and ultimately an increase in IOP. Elevated IOP further causes TM cell death. In addition, an increase in IOP in glaucoma is considered to cause mechanical deformation of LC, thereby hindering the flow of axoplasm in RGC axons and blood supply in capillaries, leading to the loss of normal structural and metabolic support of RGC, resulting in RGC apoptosis due to ischemia and hypoxia damage and deprivation of neurotrophic signals, leading to symptoms of glaucoma. Furthermore, longer AL in myopic patients disrupts the automatic regulation of IOP-microvascular, aggravates the mechanical deformation of LC and makes the eyes with longer AL more susceptible to the reduced blood flow induced by IOP, leading to RGC apoptosis due to ischemia. IOP, intraocular pressure; ROS, reactive oxygen species; TMCs, trabecular meshwork cells; AH, aqueous humour; LC, lamina cribrosa; RGCs, retinal ganglion cells; AL, axial length; AC, anterior chamber; CB, ciliary body; PC, posterior chamber; SC, Schlemm's canal.



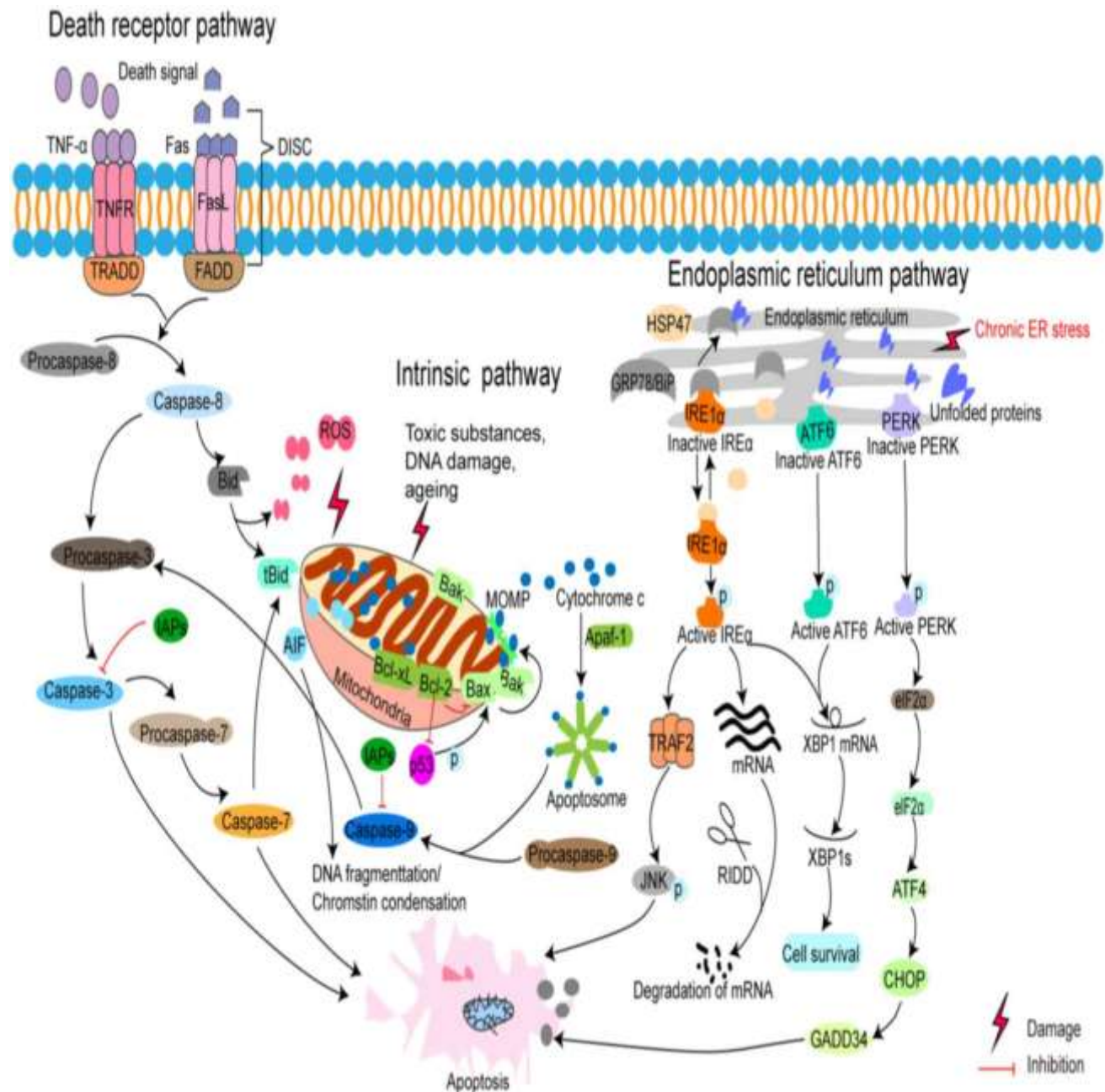
PI3K/Akt pathway in glaucoma.

Upregulation of CD9 or Ras integrating survival and other factors, can activate PI3K and induce Akt phosphorylation. Phosphorylated Akt induces an increase in new synthesis of Bcl-2/xL and phosphorylates Bad, preventing heterodimerization of Bad/Bcl-2, thereby facilitating the closure of the permeability transition pore complex and inhibiting cell apoptosis. On the other hand, miR-93-5p negatively regulates phosphatase and tensin homolog, an inhibitor in the PI3K/Akt pathway, inhibiting the autophagy through the PI3K/Akt/mTOR pathway. miR-145-5p induces cell apoptosis by downregulating TRIM2 to inhibit the PI3K/Akt pathway. miR-149 induces cell apoptosis by directly inhibiting the PI3K/Akt pathway. PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; Akt, protein kinase B; Bcl-2, B-cell lymphoma 2; xL, extra-large; mTOR, mammalian target of rapamycin; TRIM2, tripartite motif-containing 2; miR, microRNA.



The mechanism of apoptosis in glaucoma.

In the death receptor pathway, death signals, death receptors and death domain adaptors such as FADD and TRADD form the DISC to activate caspase-8. The latter activates the latter effector to execute apoptosis. The intrinsic pathway is initiated by internal damage including toxic substances, DNA damage, aging and ROS. Bax/Bak induces the MOMP and releases Cytc to initiate cell apoptosis. The unfolded protein response begins with signalling cascades through three different pathways, including ATF6, inositol-requiring enzyme 1 α (IRE1 α) and PERK. FADD, Fas-associated death domain proteins; TRADD, tumour necrosis factor receptor type 1-associated DEATH domain protein; DISC, death-inducing signalling complex; ROS, reactive oxygen species; MOMP, mitochondrial outer membrane permeabilization; Cytc, cytochrome c; ATF6, activating transcription factor 6; IRE1 α , inositol-requiring enzyme 1 α ; PERK, PKR-like endoplasmic reticulum kinase.



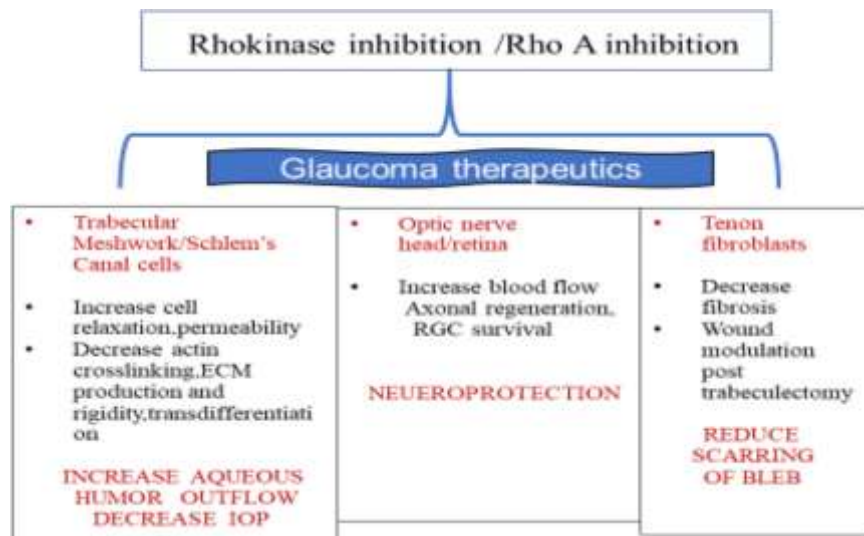
Summary of neuroprotective compounds for glaucoma with clinical trials				
Active Compound	Mechanism of Action	Route of Administration	Status in Clinical Studies	Clinical Trials
Brimonidine	Binds alpha-2 adrenergic receptors, regulates apoptotic proteins, upregulates neurotrophic factors, reduces NMDA ¹ receptor excitotoxicity	Topical	FDA-approved for IOP ² reduction, neuroprotective effects under investigation	Krupin et al., 2011; De Moraes et al., 2012
Neurotrophic Factors (BDNF ³ , CNTF ⁴ , NGF ⁵)	Binds to specific receptors (TrkB and TrkA), promotes survival of neurons, enhances axon regeneration, modulates apoptosis	Implants (CTNF), topical (rhNGF ⁶)	Ongoing Phase II trials (CTNF), Phase Ib trial showed safety (rhNGF)	Goldberg et al., 2023; Beykin et al., 2022
Memantine	Non-competitive NMDA receptor antagonist, reduces calcium influx, protects neurons from glutamate-induced excitotoxicity	Oral	Failed large-scale clinical trials	Weinreb et al., 2018
GBE ⁷	Scavenges ROS, reduces oxidative stress, stabilizes mitochondria, antagonizes PAF	Oral	Mixed results in clinical trials	Quaranta et al., 2003; Lee et al., 2013; Guo et al., 2014
Citicoline	Serves as precursor for phospholipids, enhances neurotransmitter synthesis	Oral, topical	Ongoing large-scale clinical trials	
Nicotinamide	Replenishes NAD levels, supports mitochondrial function, regulates calcium homeostasis, reduces oxidative stress	Oral	Ongoing large-scale long-term trials	NCT05275738 NCT05405868
¹ N-methyl-D-aspartate, ² intraocular pressure, ³ brain-derived neurotrophic factor, ⁴ ciliary neurotrophic factor, ⁵ nerve growth factor, ⁶ recombinant human nerve growth factor, ⁷ ginkgo biloba extract.				
Wang L-H, Huang C-H, Lin I-C. Advances in Neuroprotection in Glaucoma: Pharmacological Strategies and Emerging Technologies. Pharmaceuticals. 2024; 17(10):1261.				

Tretman

- Trenutni pristupi lečenju se sastoje od:
 - **farmakološke terapije,**
 - **lasera i**
 - **hirurških procedura,**
- Tretmani imaju za cilj da smanje povišeni IOP na nivo koji smanjuje dalje oštećenje optičkog nerva, ali koji **ne zaustavlja u potpunosti progresiju oštećenja vida.**
- **Lokalni analozi prostaglandina** (latanoprost, tafluprost, travoprost) se obično smatraju medicinskim tretmanima **prvog izbora** za snižavanje IOP-a zbog doziranja jednom dnevno i povoljnog profila sistemskih neželjenih efekata;
- **Agensi druge linije** uključuju:
 - lokalne β -blokatore (timolol, betaksolol, levobunolol),
 - inhibitore karboanhidraze (dorzolamid, brinzolamid),
 - selektivne α_2 -adrenergičke antagoniste (brimonidin, apraclonidin) i
 - lokalne holinergičke agoniste (pilocarbahol).
- Ovi lekovi snižavaju IOP smanjenjem produkcije vodene, smanjenjem otpora na izlivanje ili kombinacijom oba.

Novi terapijski izazovi

- Brojni novi terapijski lekovi za lečenje glaukoma su istraženi ili su toku klinička istraživanja.
- Od njih, inhibitori Rho-kinaze i agensi za doniranje NO nedavno su odobreni za lečenje glaukoma.

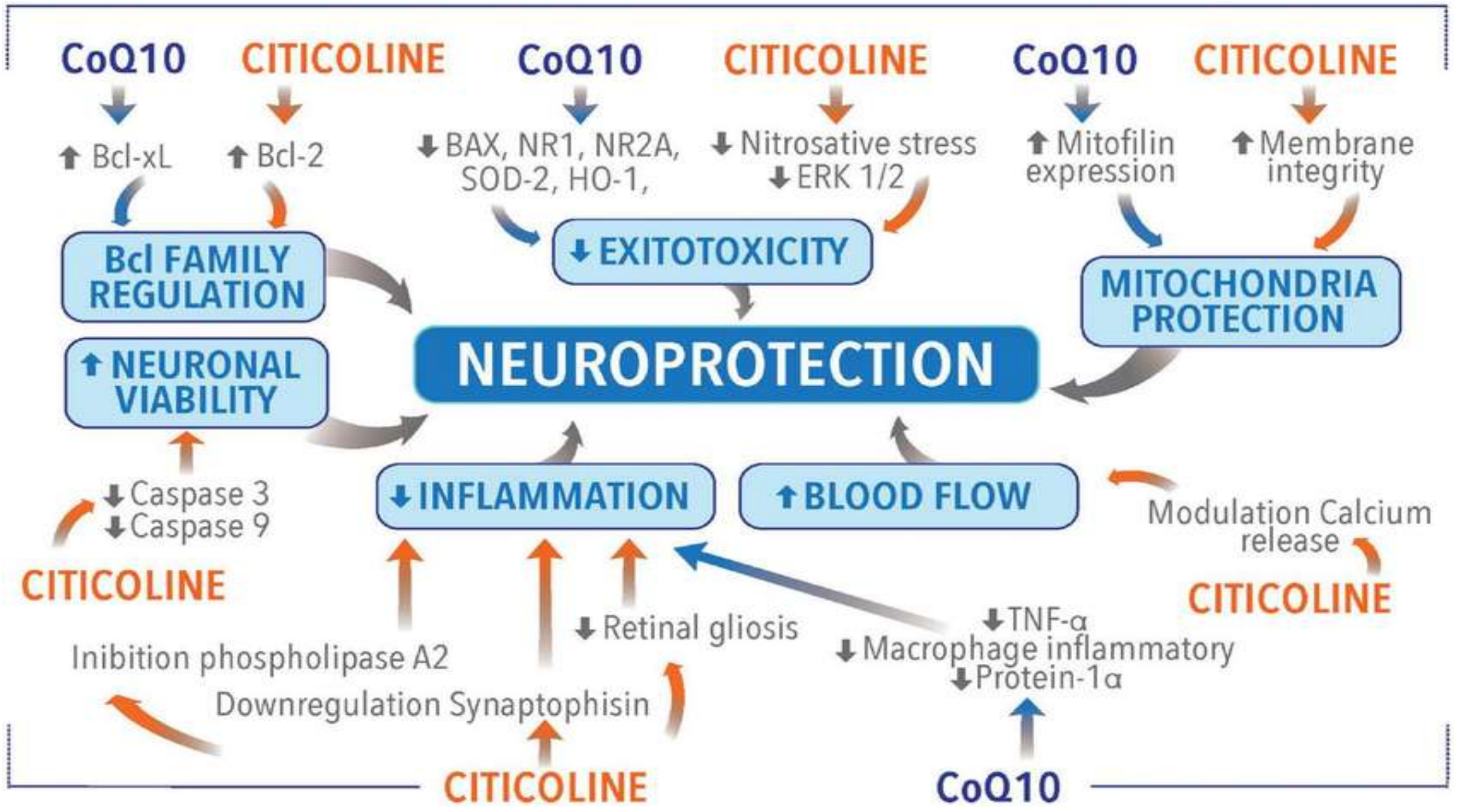


- Ovo uključuje:

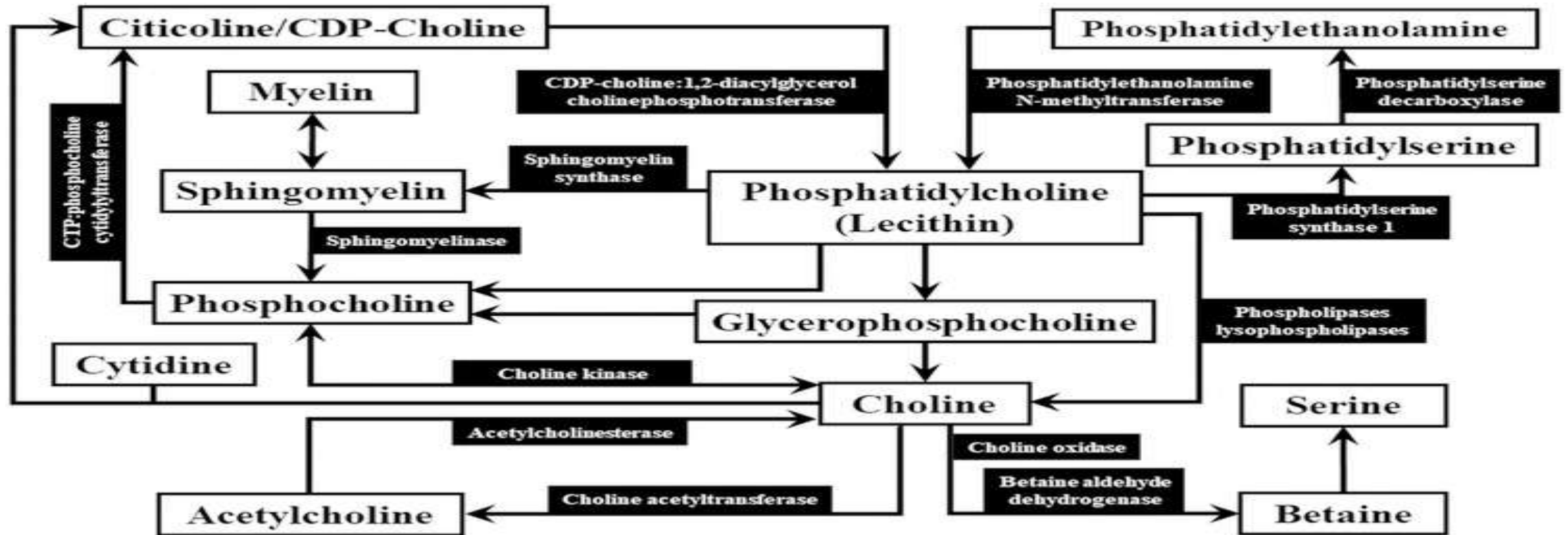
- purinergičke ligande,
- aktivatore KATP kanala,
- PI3K/Akt aktivatore,
- antagoniste glutamata,
- antioksidante,
- gasove (uključujući azot oksid, ugljen monoksid i vodonik sulfid),
- inhibitore sintaze azot oksida,
- jedinjenja neglukokortikoidnih steroidnih receptora i serosteroida kanabinina,
- ligandi,
- neurotrofni faktori,
- inhibitori histon deacetilaze,
- mala interferentna RNK,
- inhibitori Rho-kinaze i
- **citiholin**.

Terapijski pristup

- Terapijski pristup koji **direktno cilja na neurone** ima potencijal da spreči, blokira, odloži ili smanji smrtnost RGC-a uzrokovanu glaukomom, za razliku od strategija za snižavanje IOP-a koje imaju za cilj da indirektno obezbede neuroprotekciju smanjenjem primarnog oštećenja.
- Potencijalni neuroprotektivni agensi mogu funkcionisati ili povećanjem stimulusa preživljavanja i/ili ometanjem neurotoksičnog signala i, uopštenije, ciljanjem mehanizama odgovornih za pokretanje apoptotske kaskade.
- Blokiranje kaskade ekscitotoksičnosti glutamata ometanjem oslobađanja glutamata ili inhibicijom glutamatnog receptora može biti obećavajuća neuroprotektivna strategija.
- Druge potencijalne mete za neuroprotekciju uključuju mesta uključena u promovisanje preživljavanja RGC-a (uključujući Milerove ćelije, astrocite i mikrovaskulaturu mrežnjače) i smanjenje drugih mehanizama za koje se smatra da deluju kao pokretači apoptotske kaskade:
 - oksidativni stres,
 - mitohondrijalna disfunkcija,
 - pogrešno savijanje proteina i
 - aktivacija astrocita i mikroglije.

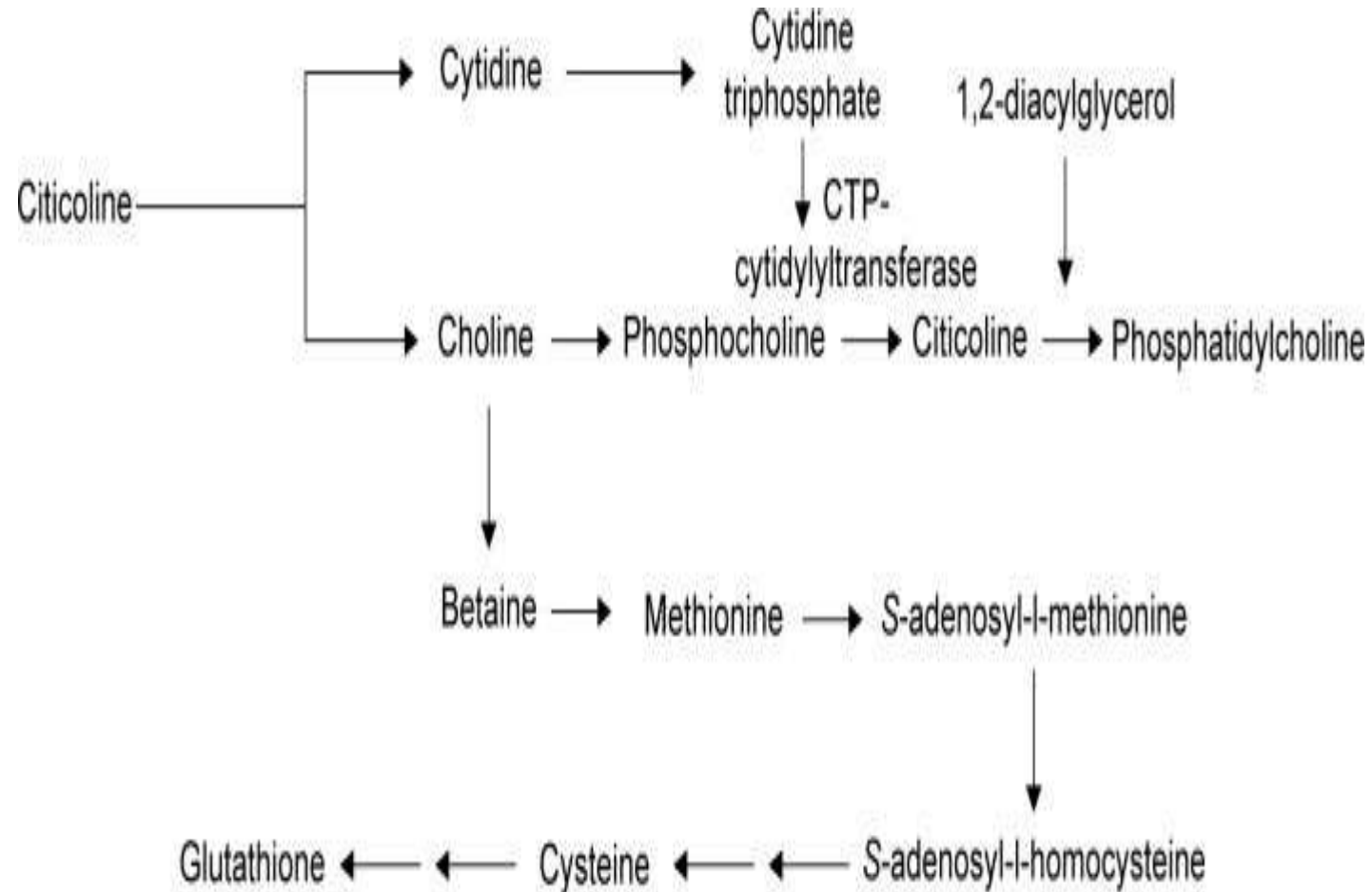


Citicoline synthesis and metabolism

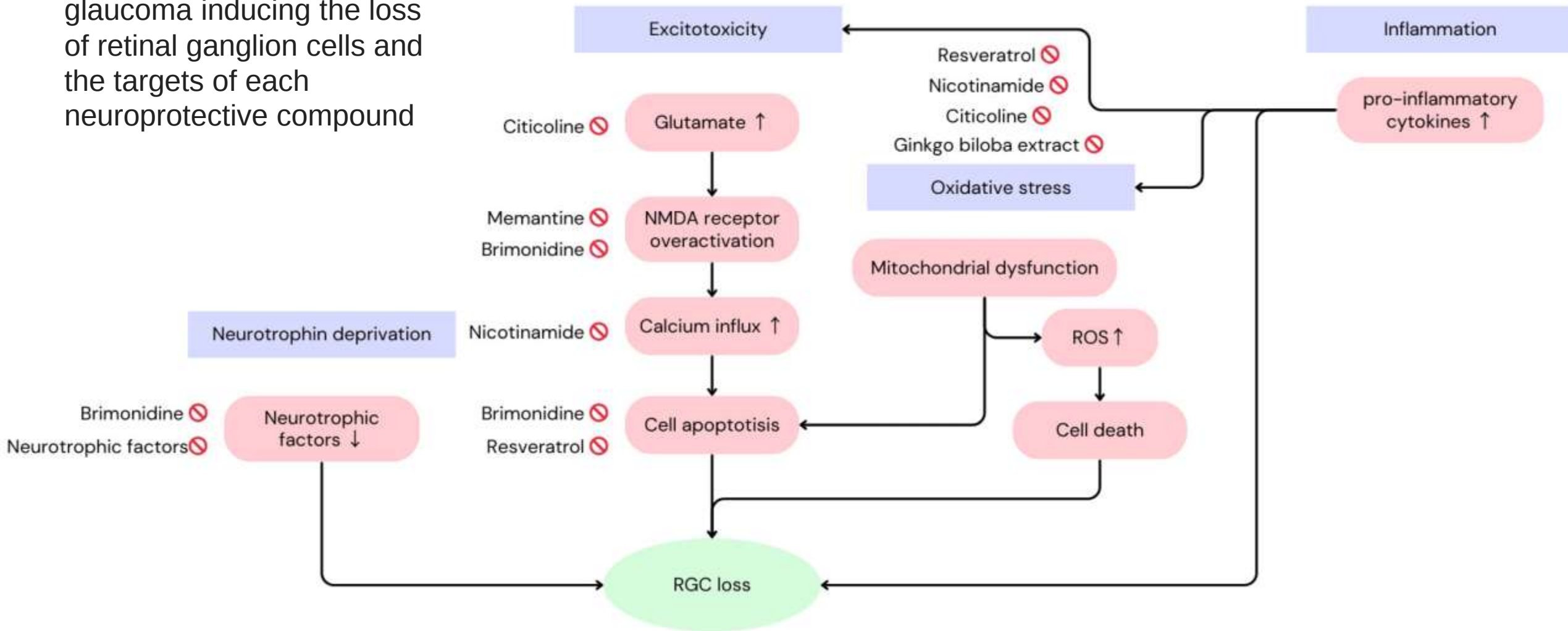


Uloga holina u retinalnim poremećajima

- Citiholin se metaboliše u holin, kvaternarni amin, citidin, pirimidin nukleozid,
- Metaboliti citiholina su uključeni u sintezu fosfatidilholina i fosfatidiletanolamina u mozgu.
- Među potencijalnim mehanizmima uključenim u patogenezu glaukoma, poremećaj metabolizma holina kod uznapredovalog glaukoma i kortikalne holinergičke abnormalnosti su umešani u glaukomatoznu degeneraciju.



The mechanisms of glaucoma inducing the loss of retinal ganglion cells and the targets of each neuroprotective compound



Holin je esencijalni nutrijent

- Holin je **esencijalni nutrijent** i kritična komponenta ćelijskih membrana, te je stoga ključan za ćelijsko funkcionisanje.
- Kao prekursor neurotransmitera **acetilholina**, on je osnovna komponenta u sintezi glavnog fosfolipida neuronske membrane, **fosfatidilholina**, kritičnog za:
 - obezbeđivanje strukturnog integriteta,
 - olakšavanja ćelijske signalizacije,
 - transporta kroz ćelijsku membranu.
- Holinergička signalizacija je uključena u neurokognitivnu funkciju, vizuelnu neurofiziologiju i interakcije sa neuronima, uključujući RGC.

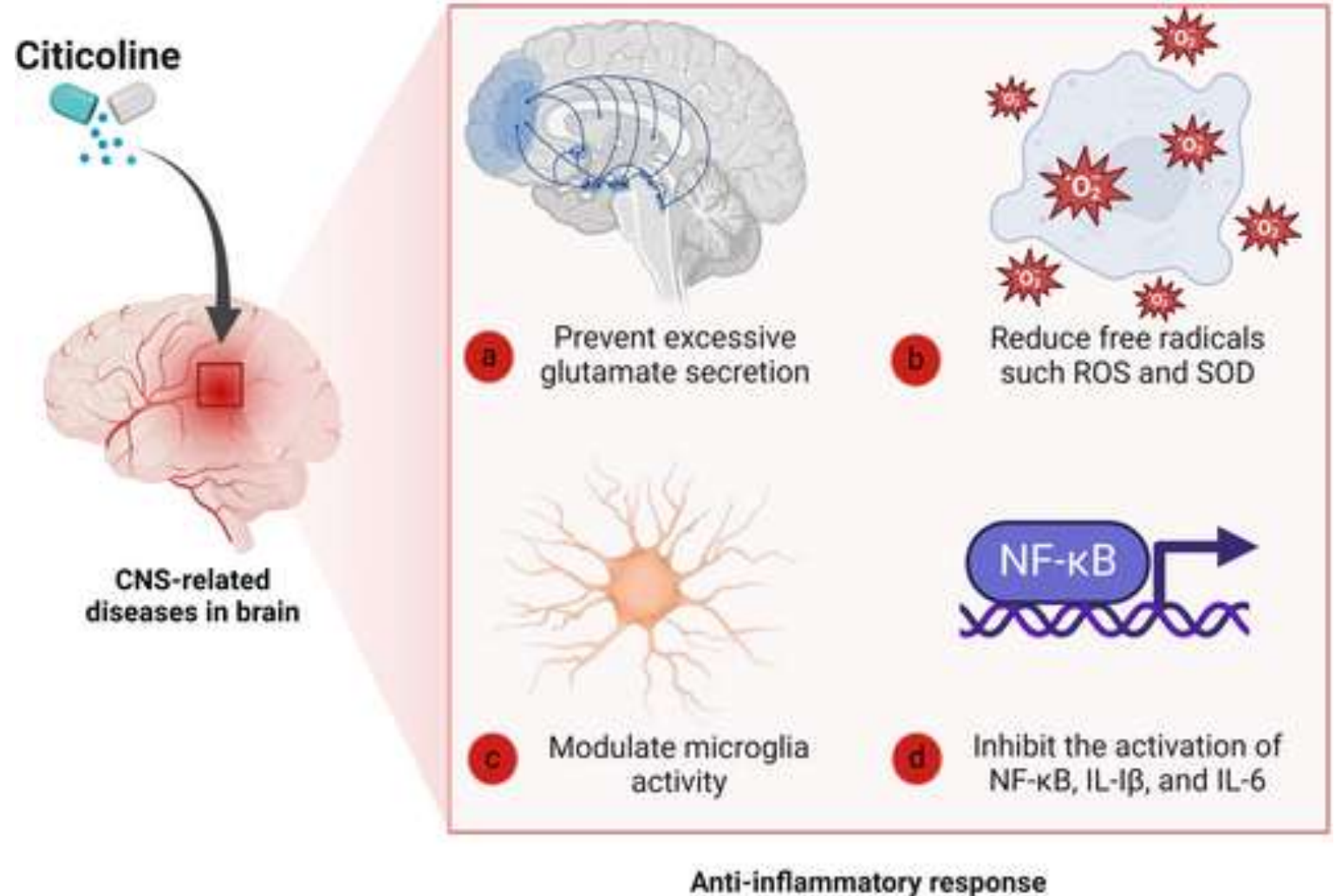
Spektroskopija nuklearne magnetne rezonance

- Spektroskopija nuklearne magnetne rezonance (*Nuclear magnetic resonance*, NMR) je korišćena za **neinvazivnu sistematsku analizu metaboličkih puteva** koji mogu da identifikuju biomarkere povezane sa bolešću i dovedu do boljeg razumevanja patofiziologije.
- U oftalmologiji, NMR je otkrio smanjenje nivoa holina u odnosu na kreatinin (**Cho:Cr**) u vizuelnom korteksu u eksperimentalnom modelu.
- Koristeći protonsku NMR spektroskopiju, *Zhang et al.* Otkrili su značajno smanjenje odnosa Cho:Cr i, pored toga, N-acetil-aspartata (**NAA):Cr** u genikulokalkarinom i prugastom području okcipitalnog režnja kod pacijenata sa primarnim glaukomom.
- Ovi nalazi ukazuju da je tekući neurodegenerativni proces u bolesti, potencijalno povezan sa nedostatkom holina u moždanim tkivima.

Unveiling citicoline's mechanisms and clinical relevance in the treatment of neuroinflammatory disorders

Protective effects of citicoline

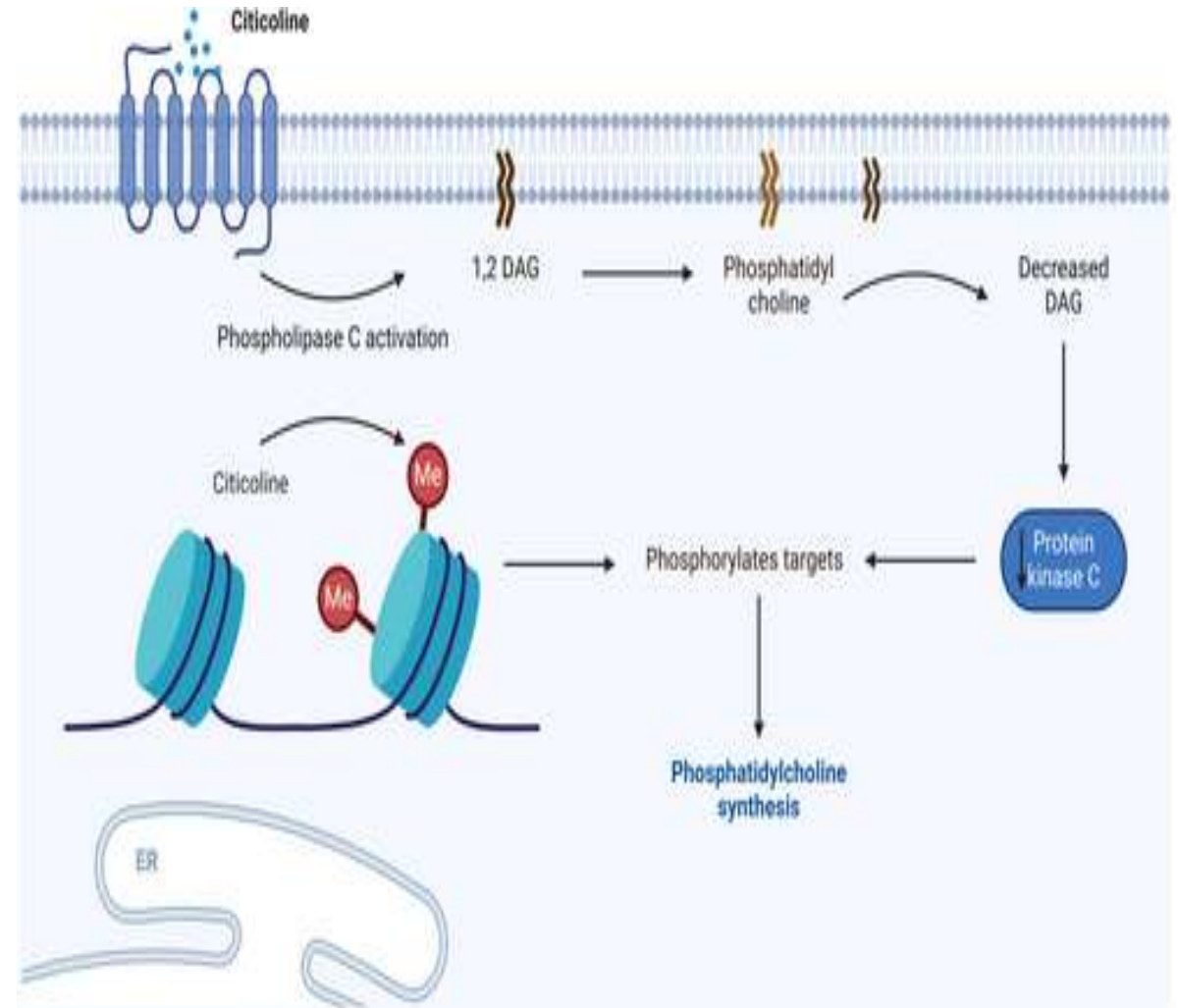
- Citicoline demonstrates its anti-inflammatory prowess through a multifaceted approach.
- It inhibits the activation of NF- κ B, leading to reduced production of pro-inflammatory cytokines like TNF- α , IL-1 β , and IL-6.
- Furthermore, it serves as a scavenger for ROS, enhances the activity of antioxidant enzymes like SOD and GPx, moderates microglial function, and restricts the entry of peripheral immune cells into the CNS by reducing the expression of adhesion molecules such as ICAM-1 and VCAM-1.



Unveiling citicoline's mechanisms and clinical relevance in the treatment of neuroinflammatory disorders

Effect on phosphatidylcholine synthesis

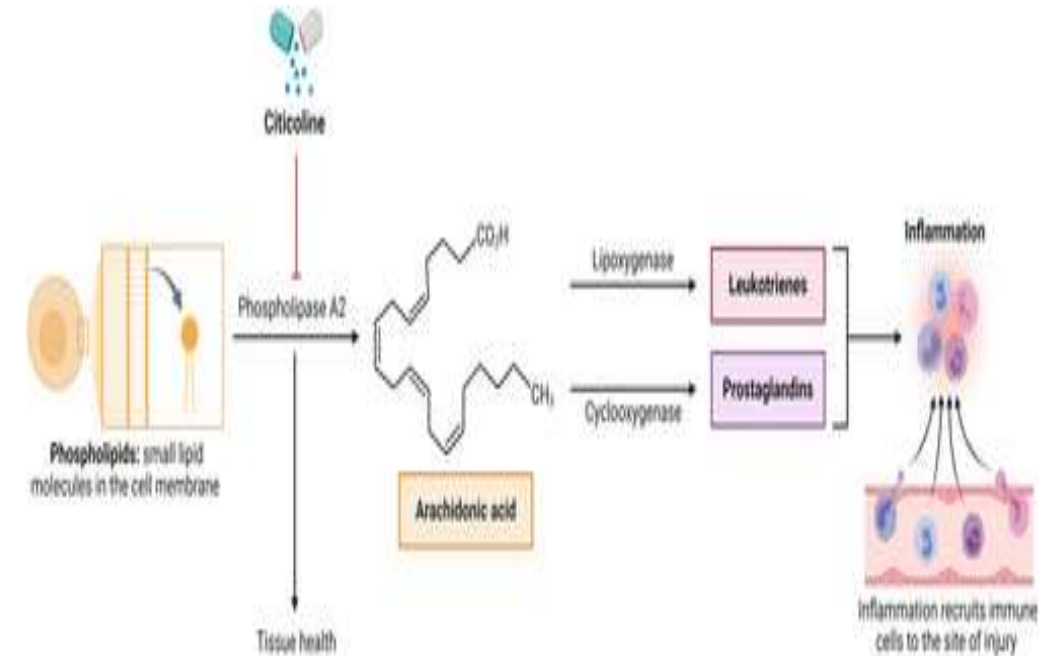
- The mechanism involves the conversion of DAG, a byproduct of phospholipase C activation, into phosphatidylcholine.
- This action prevents DAG accumulation and reduces the activation of PKC, a signaling molecule known to trigger cell death and inflammation.
- Another mechanism involves Citicoline donating methyl groups to SAM, a cofactor necessary for methylation reactions essential for phosphatidylcholine synthesis.



Unveiling citicoline's mechanisms and clinical relevance in the treatment of neuroinflammatory disorders

Effect of citicoline on COX pathway

- A schematic representation illustrating how citicoline inhibits phospholipase activity, potentially leading to reduced production of COX-2, lipoxygenase, and inflammatory mediators, improved cellular membrane integrity, and enhanced neuroprotective effect.



Unveiling
citicoline's
mechanisms
and clinical
relevance in
the treatment
of
neuroinflamm
atory
disorders

TABLE 1 Molecular neuroprotective mechanism of citicoline.

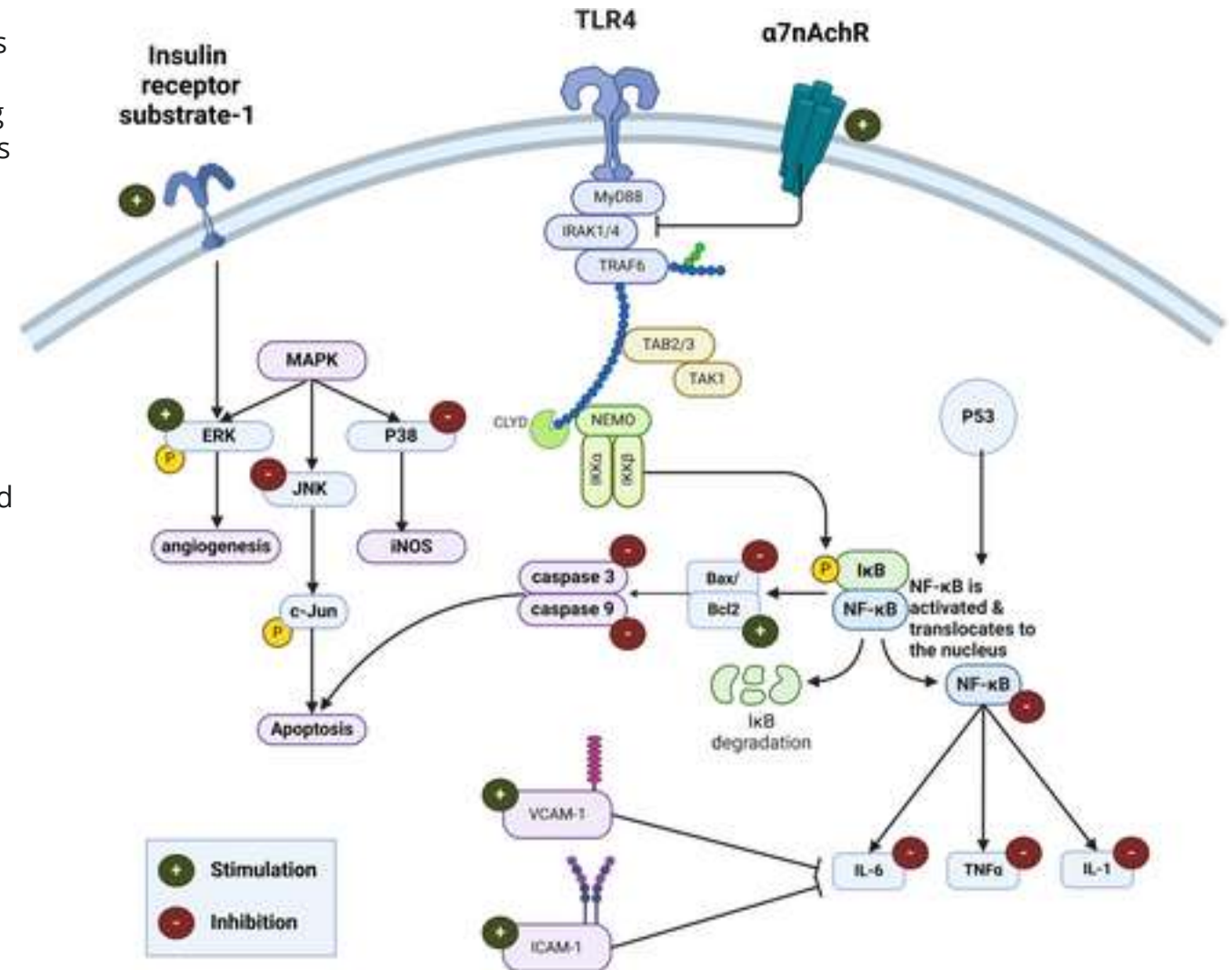
Target pathway	Model	Mechanism of citicoline
Glutamate neurotransmitter	- Stroke - TBI - AD	- Modulating NMDA receptors - Reducing calcium influx - Enhancing glutamate transporter activity - Increasing glutathione synthesis - Promoting neurotrophic factor expression - Facilitating synaptic connections
Phosphatidylcholine synthesis	- Brain injury - Stroke - Hypoglycemia - Cerebral ischemia - Hypoxia	- Converting 1, 2-DAG to phosphatidylcholine - Donating methyl groups to SAM for phosphatidylcholine synthesis - Enhancing Ach production - Protecting neurons from oxidative stress, excitotoxicity, inflammation, apoptosis - Improving cerebral blood flow and glucose metabolism
Pro-inflammatory cytokines	- Brain injury - AD - PD - TBI - Stroke	- Reducing levels of TNF-α, IL-1β, IL-6, interacting with P2Y6 receptors on microglia - Enhancing SIRT1 expression - Reducing neuronal inflammatory response - Reducing neuronal apoptosis - Promoting neuronal proliferation - Inhibiting phospholipase A2 - Decreasing ROS
NF- κ B	- Cerebral ischemia–reperfusion injury - Glutamate excitotoxicity	- Inhibiting NF-κB activation - Reducing pro-inflammatory cytokine production - Interacting with NEMO, IKKs, IκBs, or NF-κB dimers
COX-2	Cancer	- Binding to the 20S proteasome modulates its activity - Reducing COX-2 expression by decreasing phospholipase A2 stimulation
iNOS	- Diabetic neuropathy - Glaucoma	- Inhibiting iNOS activity - Reducing oxidative stress - Enhancing nerve regeneration
MMP-9	- Ischemic stroke - Ocular damage	- Lowering MMP-9 levels and activity - Increasing TGF-β1 expression - Promoting neuroprotection and axonal regeneration by modulating MMP activity - Modulating Ach receptors to regulate MMP-9 expression and function
MAPK pathway	- Focal cerebral ischemia - Human brain microvessel endothelial cells	- Inhibiting p38 MAPK and JNK activation - Stimulating ERK phosphorylation - Increasing IRS-1 expression - Enhancing angiogenesis, wound healing, and survival of endothelial cells - Decreasing microglial activation and astrocytic proliferation
STAT pathway	AD	- Inhibiting JAK2 and STAT3 activation - Decreasing pro-inflammatory cytokine production
CAP	AD	- Increasing Ach levels by increasing ChAT and α7nAChR expression - Stimulating the release of Ach, and directly activates α7nAChR to reduce inflammation and oxidative stress - Improving neurogenesis, synaptic plasticity, and neurotransmission
Apoptosis	- Ocular hypertension - Diabetic neuropathy - Transient focal ischemia	- Reducing caspase-3 and caspase-9 levels - Lowering pro-apoptotic protein expression - Increasing anti-apoptotic protein expression - Reducing caspase-8 activation - Promoting the expression of neurotrophic factors and neurite regeneration
Autophagy	AD	- Activating AMPK and Sirtuin1, - Inhibiting mTOR and increasing beclin-1 levels - Increasing LC3-II - Decreasing p62 levels - Increasing Beclin-1 and Atg5 expression

Cavalu S, Saber S, Ramadan A, Elmorsy EA, Hamad RS, Abdel-Reheim MA, Youssef ME. Unveiling citicoline's mechanisms and clinical relevance in the treatment of neuroinflammatory disorders. FASEB J. 2024 Sep 15;38(17):e70030.

Molecular mechanisms of anti-inflammatory effects of citicoline

- Citicoline shows a wide spectrum of neuroprotective and neuroregenerative attributes, and exerts a profound influence across a network of interconnected molecular pathways within the body.
- It takes center stage in modulating vital ERK, JNK, and MAPK signaling pathways that underpin cell growth, differentiation, and survival, thus enhancing cellular resilience and fostering holistic neuroprotection.
- Furthermore, citicoline actively promotes angiogenesis, facilitating heightened blood circulation and nutrient delivery, especially within the brain, thereby fortifying tissue repair and the path to recovery.
- Its pivotal role in the regulation of apoptosis becomes evident as it fine-tunes the equilibrium between Bax) and Bcl-2 factors, safeguarding cells from premature demise and reinforcing their survival.
- Citicoline also exerts a significant impact on the caspase-3 and caspase-9 activity, the key player enzymes orchestrating programmed cell death, thereby mitigating cellular attrition and augmenting cellular longevity.
- Beyond this, Citicoline's anti-inflammatory properties extend their reach to encompass NF- κ B modulation, effectively countering the adverse effects of inflammation.
- Simultaneously, it restricts the production of the inflammatory cytokines, actively participating in the dampening of inflammatory responses.
- The intricate interplay between Citicoline and the $\alpha 7$ nAChR influences a diverse array of neuroprotective mechanisms, including synaptic plasticity and the modulation of neuroinflammation, thus contributing to its cognitive enhancement and overall neuroprotective effects.

Unveiling citicoline's mechanisms and clinical relevance in the treatment of neuroinflammatory disorders



Unveiling citicoline's mechanisms and clinical relevance in the treatment of neuroinflammatory disorders

Clinical relevance and applicability of citicoline

Cavalu S, Saber S, Ramadan A, Elmorsy EA, Hamad RS, Abdel-Reheim MA, Youssef ME. Unveiling citicoline's mechanisms and clinical relevance in the treatment of neuroinflammatory disorders. FASEB J. 2024 Sep 15;38(17):e70030.

Disease	Key findings
Acute ischemic stroke	- Citicoline is associated with a significant reduction in mortality and disability at 3 months - Citicoline is associated with a significant improvement in neurological outcomes at 12 weeks - Citicoline is associated with a significant reduction in symptomatic intracranial hemorrhage and mortality - Citicoline reduces pro-inflammatory cytokines and adhesion molecules, inhibiting inflammation
Traumatic brain injury	- Citicoline improves recovery of consciousness, independence, and memory in TBI patients - Citicoline significantly increases the rate of independence in TBI patients - Citicoline is well-tolerated and has a potential benefit for functional recovery in ICH
Glaucoma	- Citicoline improves the quality of life in chronic OAG patients - Citicoline protects the retinal nerve fiber layer and may slow down visual field changes
Multiple sclerosis	- Citicoline has beneficial effects on demyelination and remyelination in animal models of MS - Citicoline improves VEPs and retinal nerve fiber layer thickness in MS patients
Alzheimer's disease	Citicoline supplementation improves cognitive performance and reduces inflammation in AD patients
Parkinson's disease	Citicoline may improve motor function, delay cognitive impairment, and reduce levodopa dosage in PD
COVID-19-related complications	Citicoline may have neuroprotective and cognitive-enhancing effects in COVID-19-related complications
Bipolar disorder	Citicoline reduces inflammation and improves depressive symptoms and cognitive function in bipolar disorder
Major depressive disorder	Citicoline reduces inflammation and improves depressive symptoms and cognitive function in MDD

Suplementacija citiholinom

- Suplementacija citiholinom pokazala je značajnu korist kod pacijenata sa glaukomom.
- Potencijalne implikacije na javno zdravlje nedostatka ovog esencijalnog hranljivog sastojka, ili nedovoljno unosa holina u ishrani, tek su nedavno počele da se ispituju.
- Smatra se da nedostatak holina utiče na različite telesne sisteme, doprinoseći neurološkim i nervnim deficitima i poremećajima jetre, bubrega, pankreasa i mišića.
- Iako značaj ovoga za razvoj glaukoma ili drugih neurodegenerativnih bolesti još nije u potpunosti shvaćen, to sugeriše produktivnu liniju istraživanja.

Choline-Rich Food Combinations

Vegetarian Diet



2 large eggs + ½ cup broccoli + 1 large
baked potato

OR



1 cup yogurt + ½ cup toasted wheat germ +
1 quiche made with 2 eggs

Omnivorous Diet



3 oz salmon + 1 cup brussel sprouts + 1 large egg
+ ½ cup kidney beans + 1 cup low-fat milk

OR



3 oz chicken breast + ½ cup black beans
+ 2 scrambled eggs

Dobri izvori holina

- Dobri izvori holina u ishrani uključuju jaja (naročito žumance), meso organa (npr. jetra), mahunarke (npr. soja) i pšenične klice.
- Unos holina ima tendenciju da se smanjuje sa godinama, a postoje značajne varijacije u individualnim potrebama u ishrani za holinom.
- Prosečni unos u populaciji pokazuje značajne varijacije, a čini se da su genetski polimorfizmi odgovorni za razlike u potrebama za holinom u ishrani.
- Približno 50% populacije može imati genetske polimorfizme koji povećavaju potrebe za holinom.

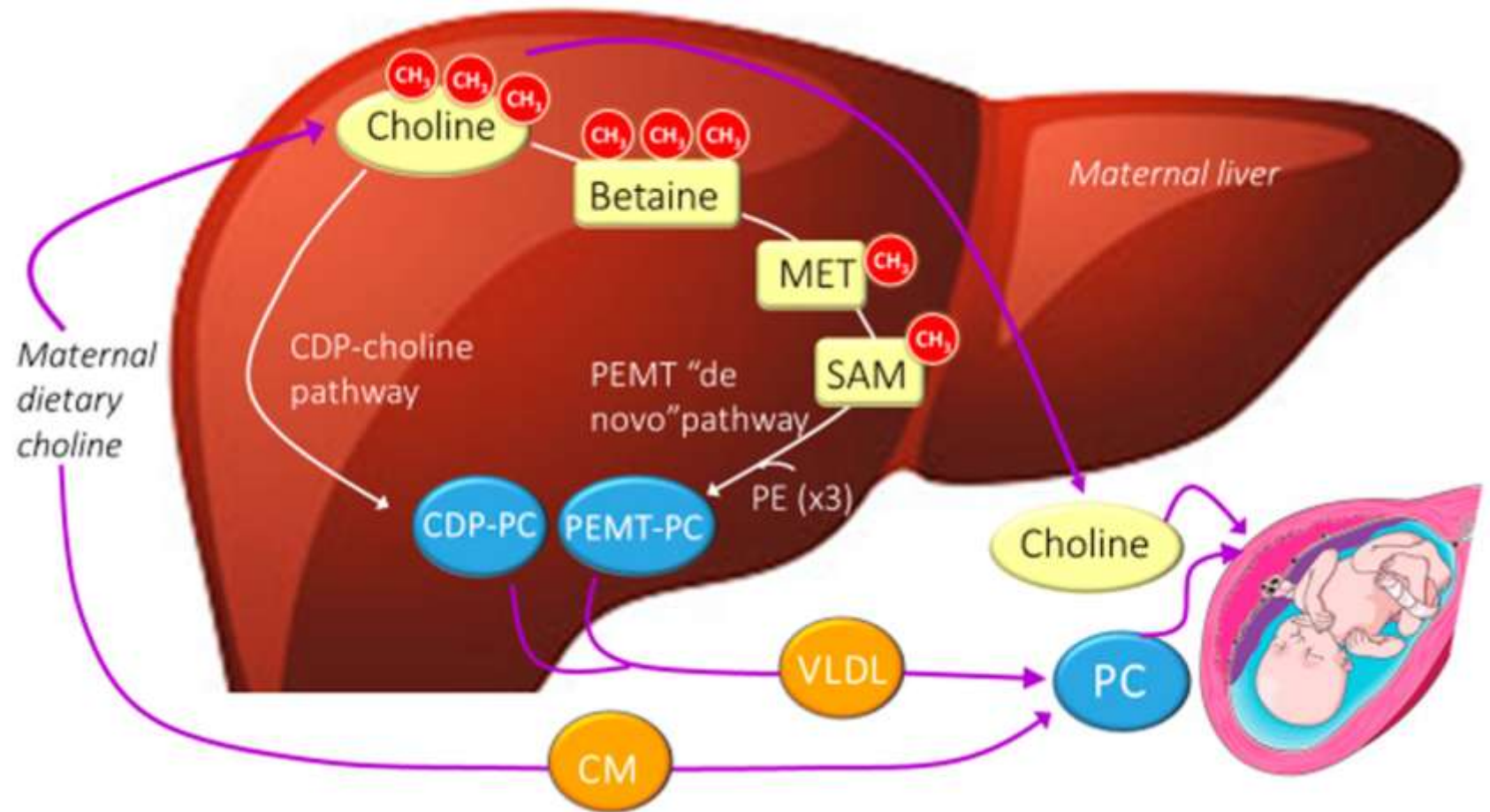
Definicija adekvatnog unosa holina

- Definicija adekvatnog unosa holina je sada sporna i možda ne odražava na adekvatan način stvarne potrebe za holinom.
- Zbog toga je teško doneti zaključke o adekvatnosti unosa holina u većini grupa stanovništva.
- **Citiholin** je dijetetski izvor **holina** i **citidina** i, u slučaju povećanih potreba za holinom, suplementacija citiholinom se može izabrati kao sigurnija i efikasnija opcija.
 - Bioraspoloživost holina u tkivu iz citiholina—koja premašuje 90% i oralnim i parenteralnim putem — izgleda da je superiornija od one slobodnog holina.
 - Nema podataka o efektima dodatka holina na fiziologiju oka ili na poremećaje mrežnjače, za razliku od objavljene literature koja pokazuje bioraspoloživost i prednosti suplementacije citiholinom kod glaukoma i drugih oftalmoloških bolesti.
 - Potvrda nedostatka citikolina, odnosno povećane potrebe za citikolinom kod pacijenata sa rizikom od razvoja glaukoma, predstavlja dodatnu liniju istraživanja koja može dodatno povećati razumevanje patofiziologije bolesti.

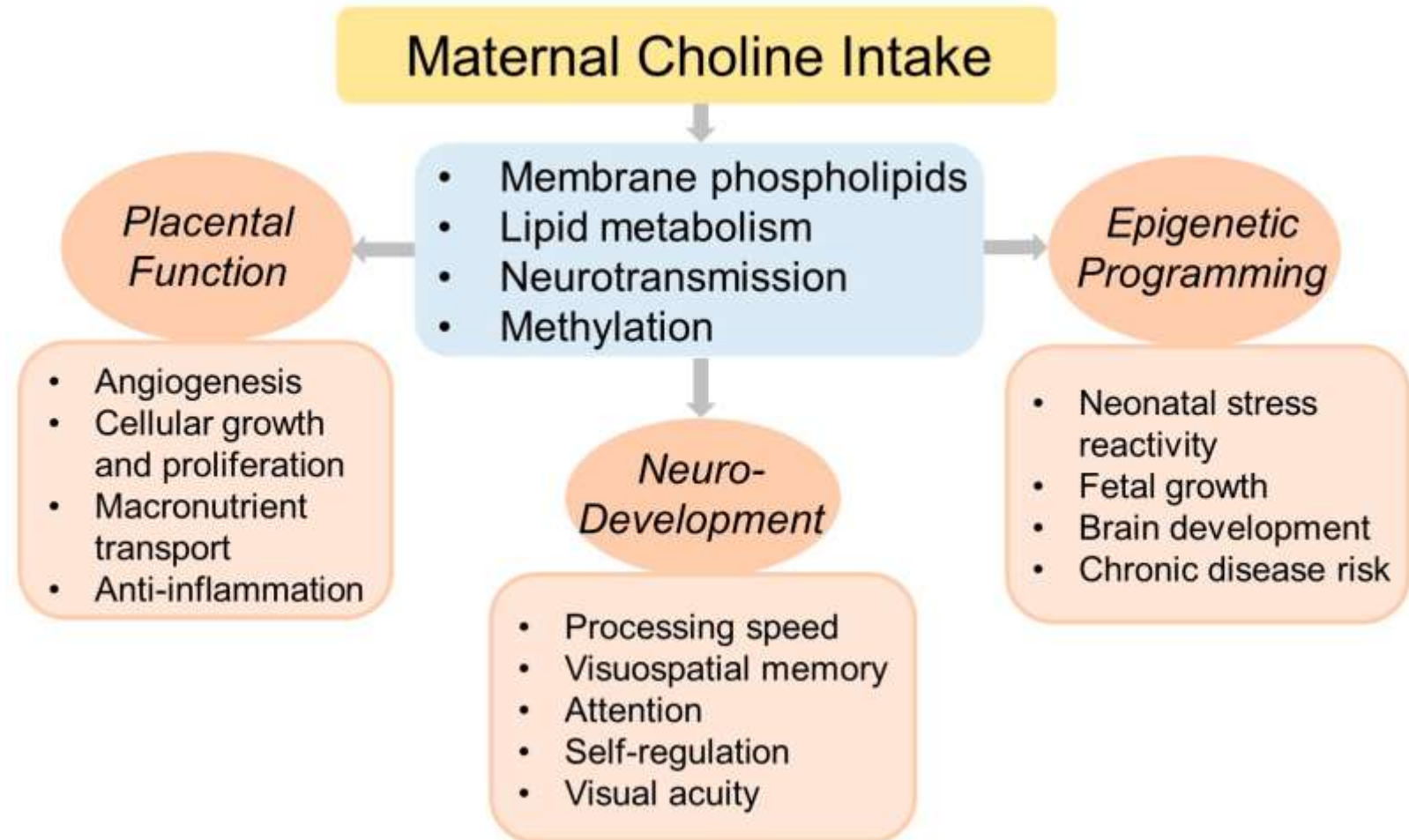
Uloga holina u ljudskom zdravlju počinje prenatalno i proteže se u odraslo doba i starost.

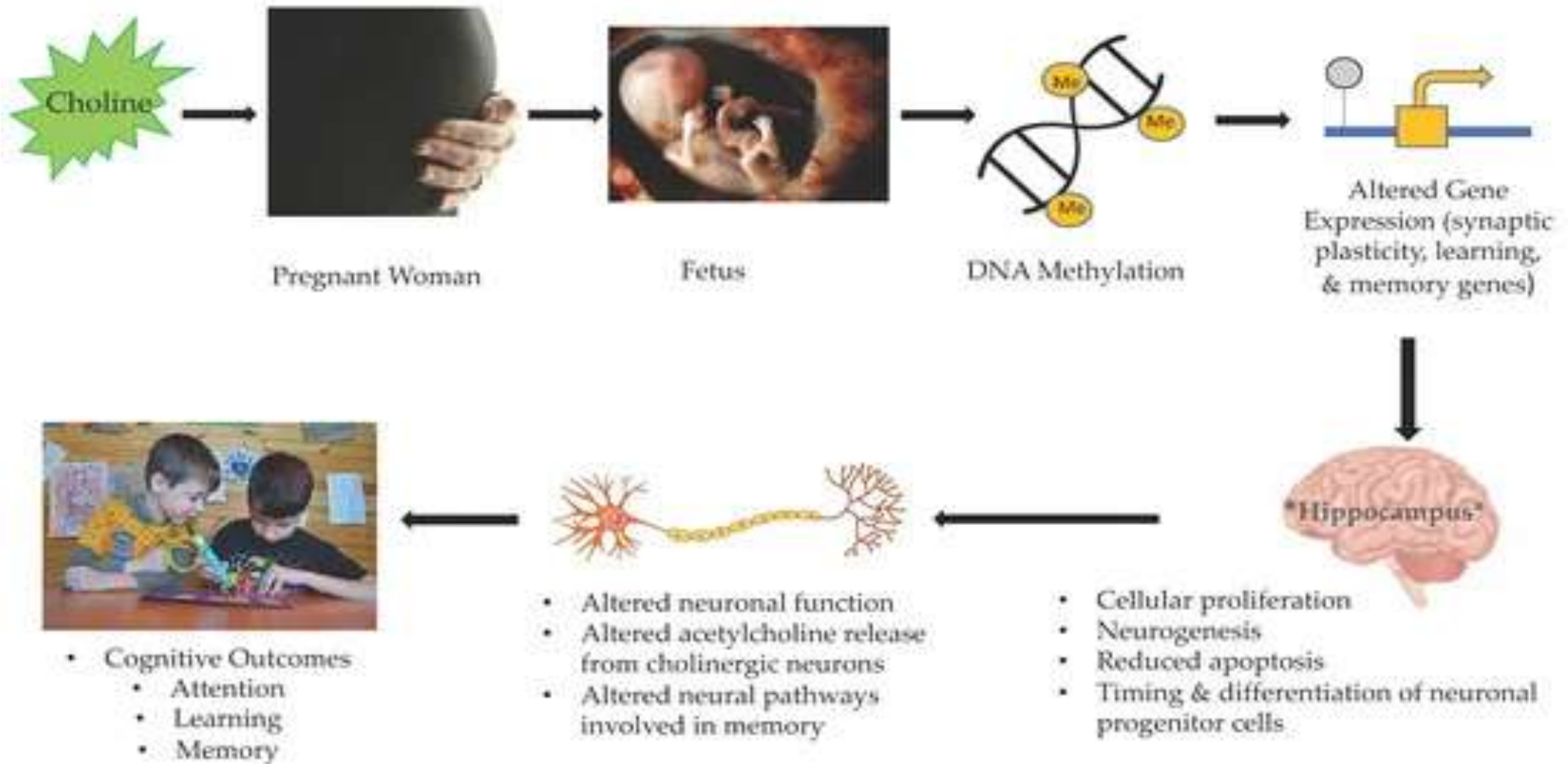
Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. (National Academy Press, 1998).

A simplified diagram of the metabolic fate of maternal dietary choline and its delivery to the developing fetus



An overview of the effects of maternal choline intake during pregnancy on physiological processes and health outcomes





Neuroprotektivna svojstva citiholina

- Patofiziologija centralnih neurodegenerativnih bolesti može takođe uključivati, između ostalih mehanizama,
 - ekscitotoksičnost,
 - oštećenja od oksidativnog stresa,
 - apoptotske efekte i
 - inflamatorne puteve.
- Citiholin je neuroprotektivno jedinjenje sa potencijalom da direktno spase RGC ili neutrališe štetne efekte različitih toksičnih faktora koji su proučavani.
- Što se tiče holina, citikolin je prekursor neurotransmitera acetilholina i drugih komponenti neuronske membrane, i deluje kao posrednik u sintezi fosfatidilholina.
- Citiholin farmaceutskog kvaliteta, ili citidin 50-difosfoholin, je **hemijski identičan prirodnom metabolitu**.

Citiholin: Ključ za zaštitu mozga

- Pošto se retina može smatrati delom CNS-a, sugerisano je da glaukom ima sličnosti sa drugim hroničnim centralnim neurodegenerativnim oboljenjima.
- Efekat suplementacije citikolinom na centralne funkcije je istražen kod nekoliko neurodegenerativnih bolesti.
 - Kod Parkinsonove bolesti, citiholin smanjuje neželjene efekte levodope i ima efekat štednje levodope, odlažući gubitak efikasnosti.
 - Postoje dokazi da citiholin ima pozitivan efekat na kognitivne poremećaje i poremećaje ponašanja kod starijih pacijenata sa kognitivnim oštećenjem povezanim sa hroničnim cerebralnim poremećajima mozga, kao što je Alchajmerova bolest.
 - Prijavljene su prednosti u smislu pamćenja, vremena reakcije, pažnje, lucidnosti, koncentracije, ponašanja, globalnih centralnih funkcija i opšteg blagostanja.
 - Sistematski pregled *Cochrane* baze podataka, koji je identifikovao 14 studija koje su uključivale 1051 pacijenta sa vaskularnim kognitivnim oštećenjem i senilnom demencijom, potvrdio je pozitivan efekat citiholina na pamćenje i ponašanje.
- Kod ishemijskog moždanog udara, neke studije su pokazale da primena citiholina pored uobičajenog medicinskog lečenja akutnog moždanog udara može poboljšati funkciju mozga i smanjiti kognitivni pad nakon moždanog udara , posebno što rezultira boljim ishodima u funkcijama izvršne pažnje, i vremenske orijentacije, u poređenju sa kontrolama .

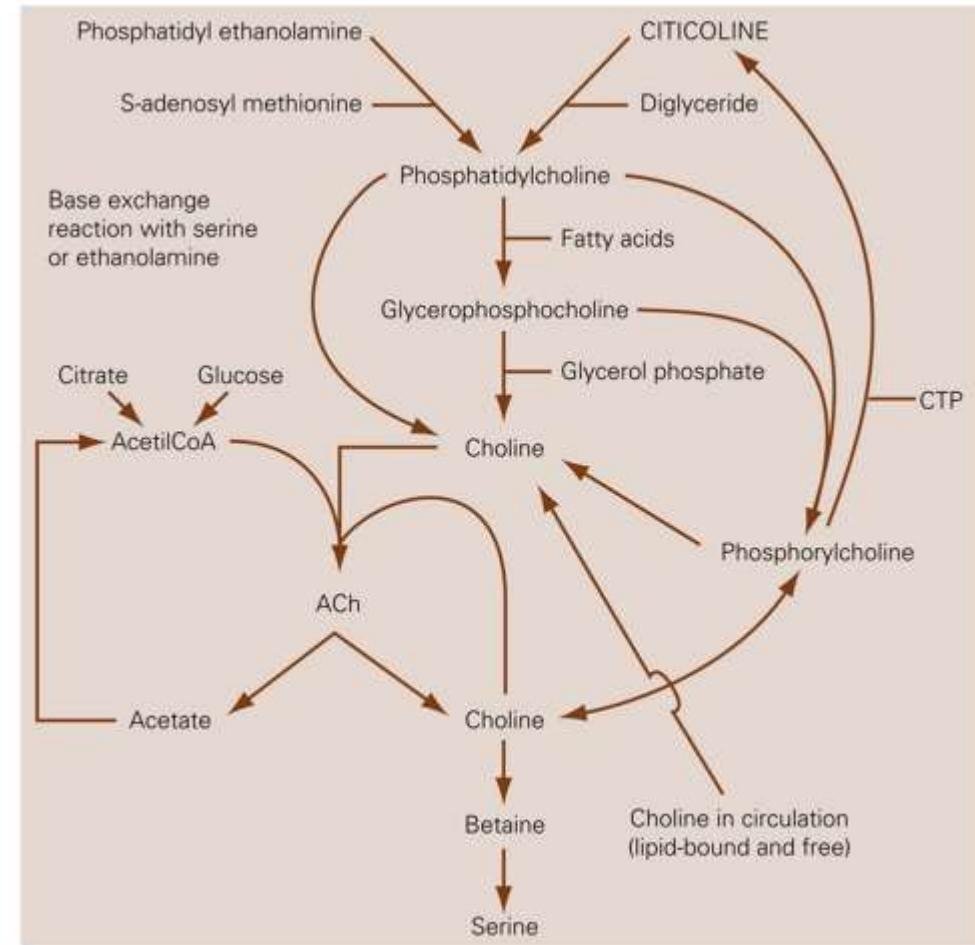
Eksperimentalni dokazi

- Nakon parenteralne primene, citiholin prolazi kroz brzu hidrolizu do citidin-50-monofosfata i fosfoholina, za koje se smatra da se dalje defosforiluju fosfatazama u holin i citidin pre nego što pređu krvno-moždanu barijeru, gde se holin inkorporira u mitociklondrijalnu i mitocikličnu barijeru. ćelijske membrane i mikrozomalna fosfolipidna frakcija.
 - Studije uzimanja radioaktivno obeleženog citiholina intravenskim (IV) ili oralnim putem kod glodara potvrđuju povećanje nivoa fosfolipida, posebno fosfatidilholina i sfingomijelina, u mozgu u prvih pet sati nakon primene citiholina, koji je nastavio da raste tokom narednih 48 h.
- Istovremeno, citidinska frakcija citiholina je integrisana u citidinske nukleotide i nukleinske kiseline u mozgu.



Odnos između metabolizma citiholina i holina, cerebralnih fosfolipida i acetilholina.

- Eksperimentalno je pokazano da oralni citiholin aktivira biosintezu fosfatidilholina i drugih strukturnih fosfolipida neuronskih membrana, povećavajući metabolizam mozga i pojačavajući oslobađanje neurotransmitera u CNS, uključujući:
 - norepinefrin i
 - dopamin.
- Kao prekursor acetilholina, učestvuje u nekoliko relevantnih neurohemijskih procesa i povećava nivoe dopamina u mozgu i retini.



Gandolfi S, Marchini G, Caporossi A, Scuderi G, Tomasso L, Brunoro A. Cytidine 5'-Diphosphocholine (Citicoline): Evidence for a Neuroprotective Role in Glaucoma. *Nutrients*. 2020 Mar 18;12(3):793.

Ach, acetylcholine; CTP, phosphocholine cytidylyltransferase.

Cholinergički sistem i glaukom

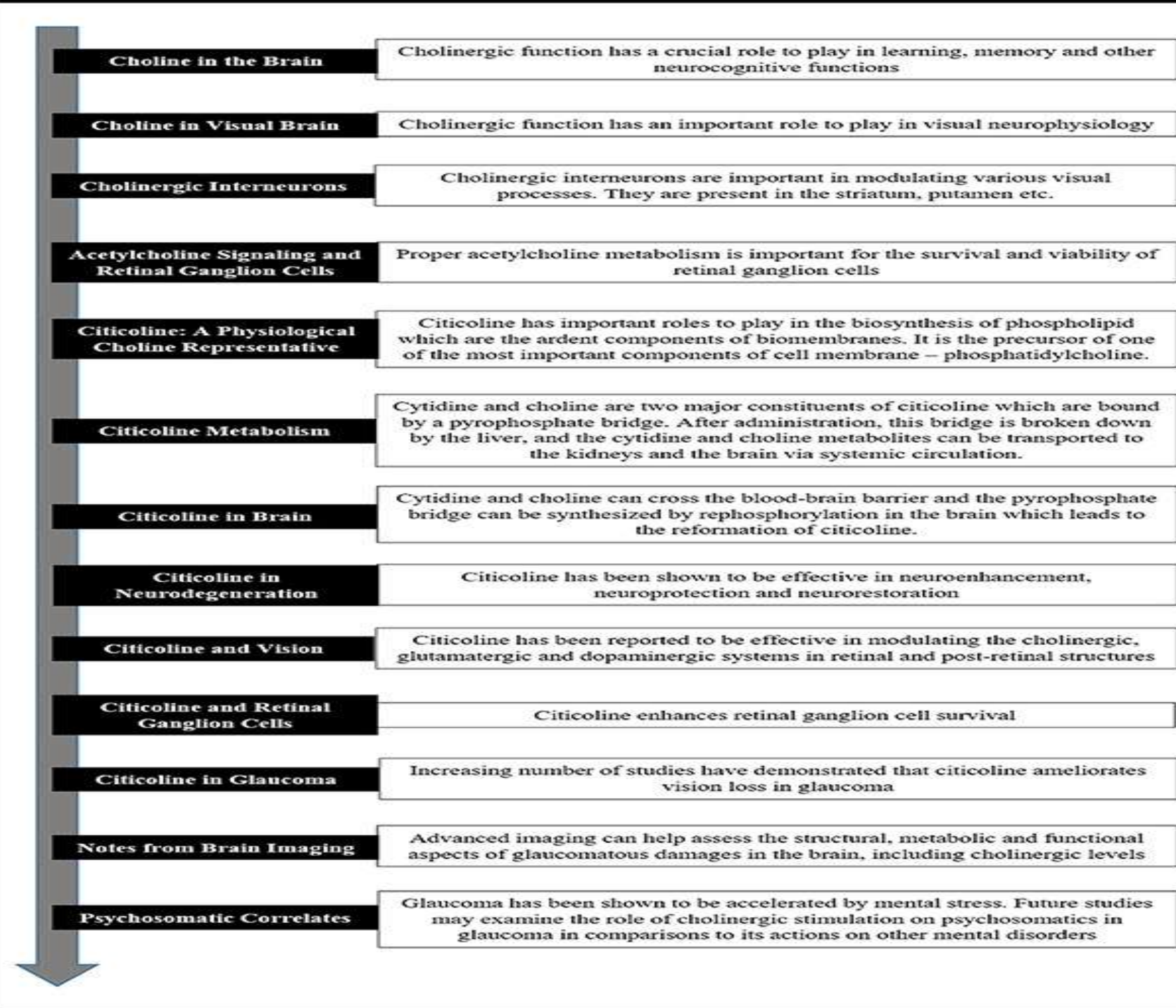
- Holinergički sistem ima ključnu ulogu u vizuelnoj funkciji.
- Iako su holinergični lekovi bili u fokusu pažnje kao lekovi protiv glaukoma za smanjenje očnog pritiska, malo se zna o potencijalnom modalitetu za preživljavanje neurona i/ili poboljšanje kod oštećenja vida.
- Citiholin, prirodno jedinjenje i dodatak ishrani koji je odobrila FDA, je **nootropni agens** za koji je nedavno dokazano da je efikasan kod ljudi i kod životinjskih modela u ublažavanju:
 - ishemijskog moždanog udara,
 - traumatske povrede mozga,
 - Parkinsonove bolesti,
 - Alchajmerove bolesti,
 - cerebrovaskularnih bolesti,
 - poremećaja pamćenja i
 - poremećaja pažnje/hiperaktivnosti.

Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications

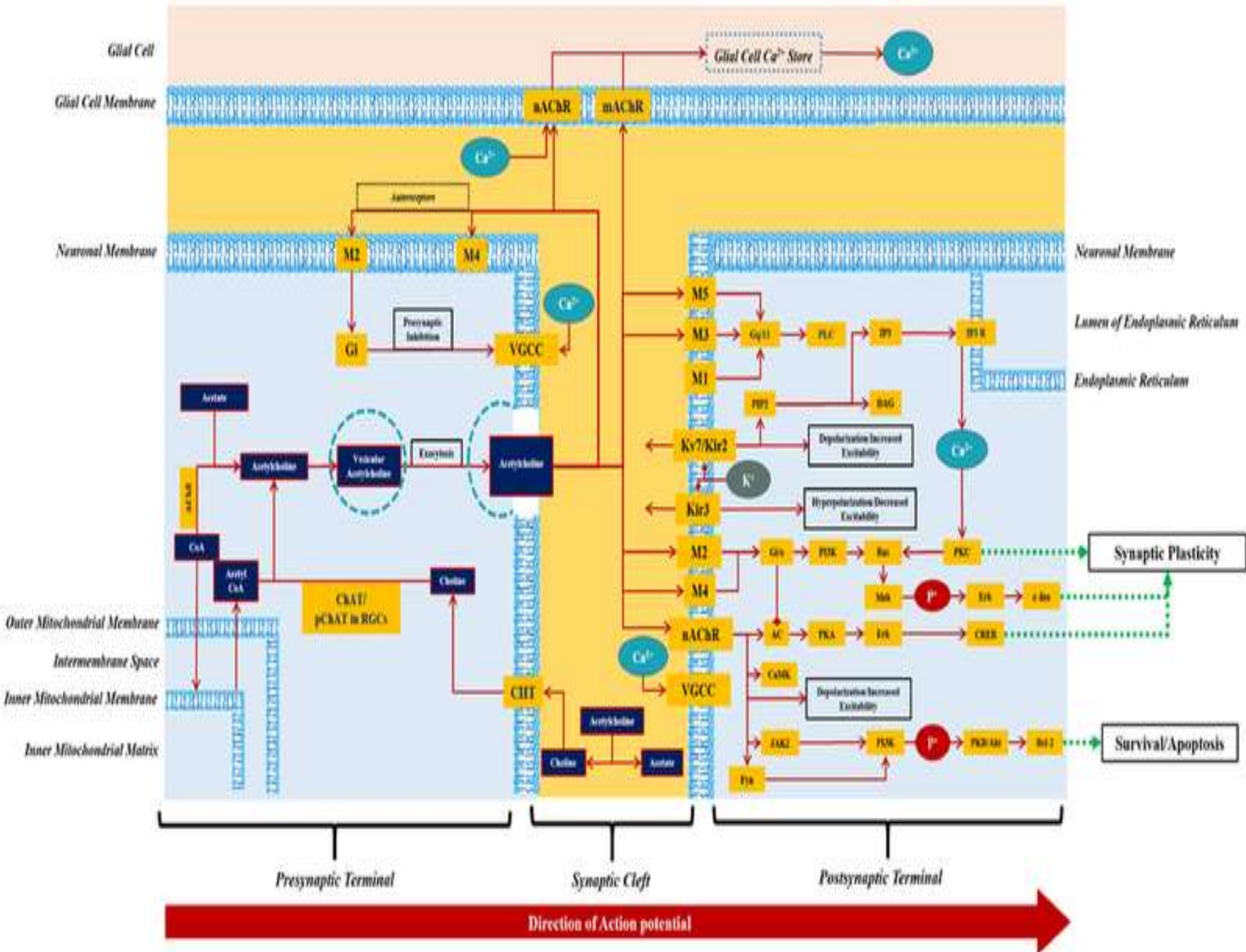
- Čini se da su mehanizmi njegovog delovanja raznovrsni, uključujući
 - očuvanje sadržaja kardiolipina, sfingomijelina i arahidonske kiseline u fosfatidilholinu i fosfatidiletanolaminu,
 - obnavljanje fosfatidilholina,
 - stimulaciju sinteze glutationa, nižu koncentraciju glutationa sprečavanje ekscitotoksičnost glutamata,
 - spašavanje mitohondrijalne funkcije čime se sprečava oksidativno oštećenje i početak apoptoze neurona,
 - sinteza mijelina koja dovodi do poboljšanja integriteta neuronske membrane,
 - poboljšanje sinteze acetilholina i na taj način smanjenje efekata mentalnog stresa i
 - sprečavanje endotelne disfunkcije.
- Takvi efekti garantuju za citiholin kao neuroprotektivno, neurorestorativno i neuroregenerativno sredstvo.

Conceptual guide of the cholinergic system in vision

Faiq MA, Wollstein G,
Schuman JS, Chan KC.
Cholinergic nervous
system and glaucoma:
From basic science to
clinical applications.
Prog Retin Eye Res.
2019 Sep;72:100767.

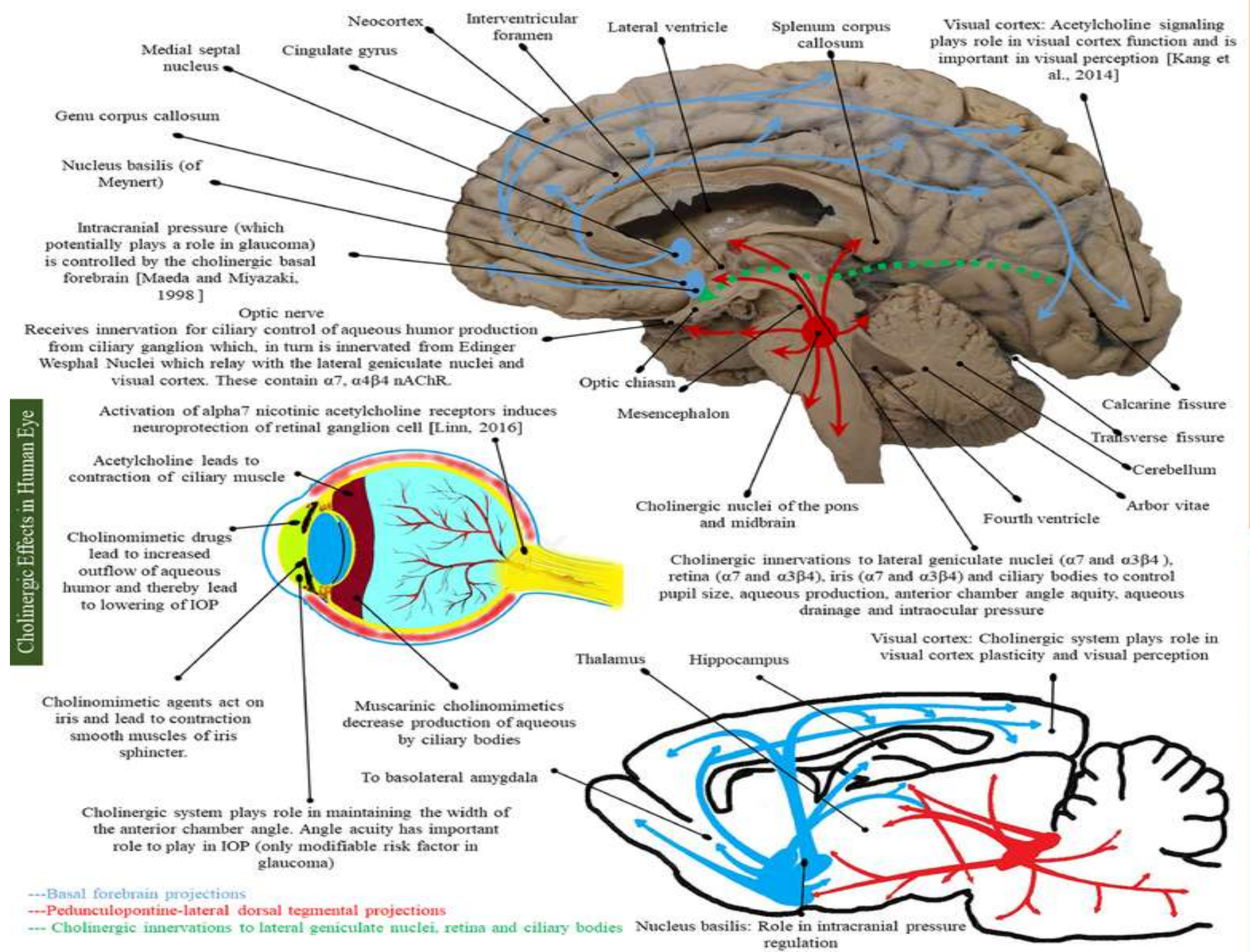


Representative portrayal of the micro-anatomy and molecular biology of the cholinergic synaps



Faiq MA, Wollstein G, Schuman JS, Chan KC. Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications. *Prog Retin Eye Res.* 2019 Sep;72:100767.

The cholinergic system in the eyes and brains of humans and rodents



Faiq MA, Wollstein G, Schuman JS, Chan KC. Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications. *Prog Retin Eye Res.* 2019 Sep;72:100767.

Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications

- Ganglijske ćelije mrežnjače su neuroni sa dugim mijelinizovanim aksonima koji daju snažno obrazloženje za upotrebu citiholina kod poremećaja vizuelnih puteva.
- Pošto je glaukom oblik neurodegeneracije koja uključuje ganglijske ćelije mrežnjače, citiholin može pomoći u ublažavanju glaukomatoznih oštećenja na više modaliteta.
- Identifikovana je trans-sinaptička degeneracija kod ljudi i eksperimentalnih modela glaukoma što sugeriše holinergički sistem kao novu metu mozga za lečenje i terapiju glaukoma.

Antiapoptotički efekat citikolina

- Citiholin sprečava akumulaciju slobodnih masnih kiselina u tkivu izazvanu ishemijom, što dovodi do antiapoptotičkog i neuroprotektivnog efekta.
- Pretpostavlja se da je antiapoptotički efekat citiholina povezan sa mehanizmom smrti ćelija zavisnim od mitohondrija, zajedno sa sposobnošću da podrži regeneraciju aksona.
 - U kulturama retine glodara i životinjskim modelima glaukoma, citikolin je:
 - ✓ indukovao antiapoptotičke efekte u mitohondrijalno zavisnoj ćelijskoj smrti,
 - ✓ povećao nivoe dopamina u retini,
 - ✓ sprečio stanjivanje sloja retinalnih nervnih vlakana i
 - ✓ promovisao regeneraciju neurita (*Parisi et al.*).
- **In vitro** studije na ćelijama retine sugerišu da citiholin može imati neuroprotektivnu aktivnost:
 - blokiranjem kaskade ekscitotoksičnosti koja dovodi do smrti ćelija posredovane glutamatom i
 - smanjenjem proapoptotičkih efekata i gubitka sinapse.

Efekat citiholina u sprečavanju ćelijske smrti posredovane glutamatom I/II

- Efekat citiholina u sprečavanju ćelijske smrti posredovane glutamatom istražen je u jednoj studiji koja je koristila ćelije granula cerebelarnog mozga pacova prethodno tretirane citiholinom.
- Testovi isključenja tripan plavog i aktivnosti laktat dehidrogenaze pokazali su da citiholin izaziva smanjenje ekscitotoksičnosti izazvane glutamatom u zavisnosti od doze i vremena;
 - citiholin je smanjio broj apoptotičkih ćelija za preko 80%.
- Ćelijska smrt je bila više nego prepolovljena kada je citiholin dodat šest dana pre nego što je indukovana ekscitotoksičnost glutamata, ali manje od 20% kada je citiholin dodat istovremeno sa glutamatom.

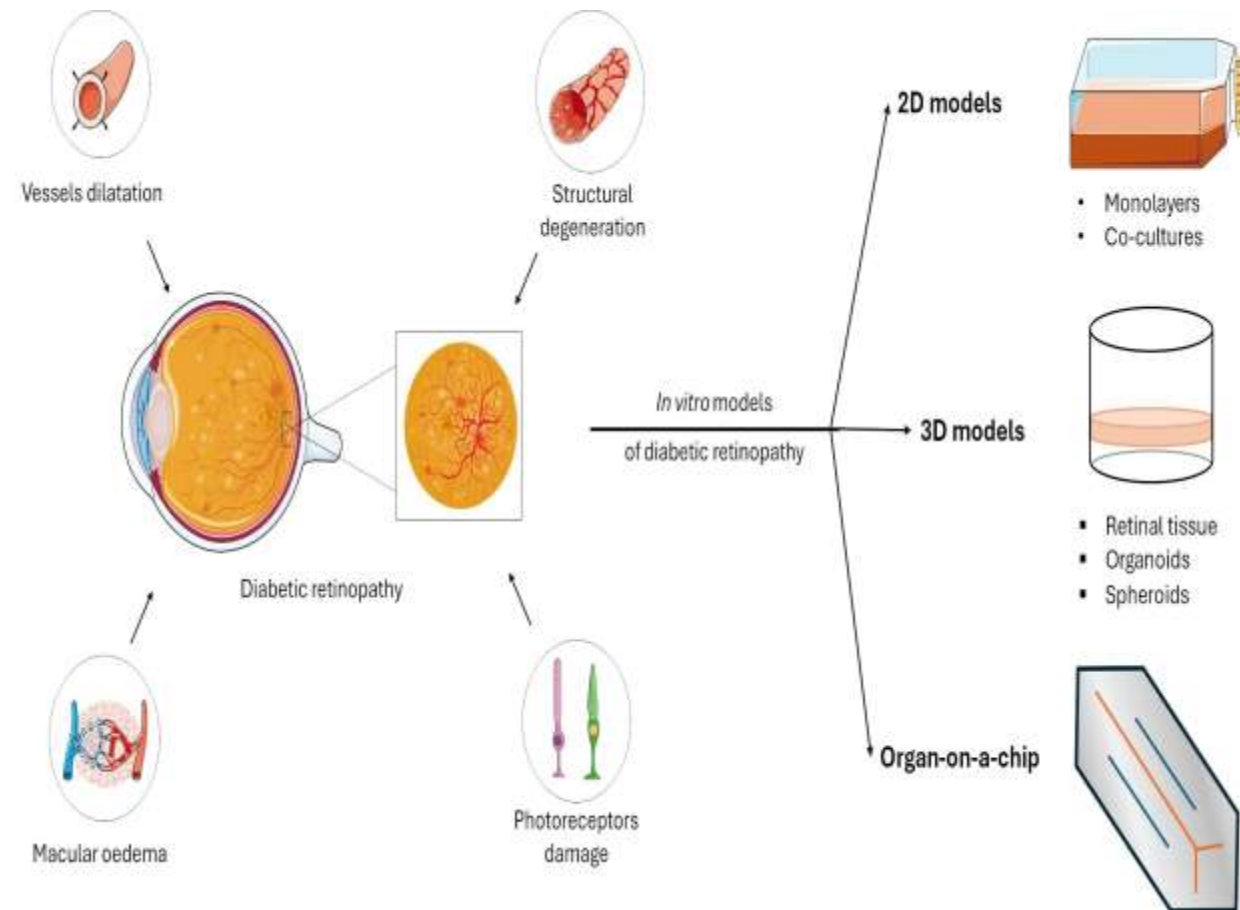
Mir C., Clotet J., Aledo R., Durany N., Argemi J., Lozano R., Cervos-Navarro J., Casals N. CDP-choline prevents glutamate-mediated cell death in cerebellar granule neurons. J. Mol. Neurosci. 2003;20:53–60.

Efekat citiholina u sprečavanju ćelijske smrti posredovane glutamatom II/II

- Druga studija je ispitala da li citiholin ima neuroprotektivnu aktivnost protiv oštećenja retine izazvanog kainskom kiselinom u staklastom telu očiju pacova (kainska kiselina je analog glutamata).
 - Došlo je do značajnog gubitka ćelija u unutrašnjem nuklearnom sloju i unutrašnjem pleksiformnom sloju mrežnjače 1, 3 i 7 dana nakon injekcije kainske kiseline.
 - Istovremeno, nakon tretmana citiholinom nisu otkrivene značajne promene u debljini retine ili imunoreaktivnosti holin acetiltransferaze i tirozin hidroksilaze u retini, dok je imunoreaktivnost holin acetiltransferaze i tirozin hidroksilaze skoro nestala nakon sedam dana injekcije kainske kiseline.
 - Produženo lečenje (7 dana) citiholinom značajno je umanjilo smanjenje debljine mrežnjače i imunoreaktivnosti, podržavajući neuroprotektivni efekat na oštećenje mrežnjače usled neurotoksičnosti izazvane glutamatom.

Neuroprotektivni efekat citiholina protiv toksičnih efekata produžene hiperglikemije

- Neuroprotektivni efekat citiholina protiv toksičnih efekata produžene hiperglikemije na retinu ispitali su *Zerbini et al.* na mišjem modelu dijabetesa tipa 1.
- Posle osam meseci indukovano dijabetesa, došlo je do smanjenja debljine i horoide i slojeva retine, uključujući sloj nervnih vlakana mrežnjače, kompleks ganglijskih ćelija i ganglionske ćelije/unutrašnji pleksiformni sloj, kod dijabetičara u odnosu na kontrolnih miševa.
- Nije bilo značajnog stanjivanja odgovarajućih slojeva mrežnjače kod dijabetičkih miševa tretiranih citiholinom, što ukazuje na neuroprotektivnu akciju.



Dokazi iz kliničkih studija I/VIII

- Pokazalo se da oralni i intramuskularni (IM) citiholin poboljšava funkciju mrežnjače i nervnu provodljivost duž vizuelnih puteva kod pacijenata sa glaukomom.
- Upotreba citiholina za lečenje POAG-a je prvi put objavljena 1989. od strane *Pecori Giraldi et al.*, koji su opisali povoljne neurotrofične efekte na vidna polja pacijenata lečenih IM citiholinom.
 - Svi pacijenti u njihovoj studiji imali su glaukomatozne perimetrijske defekte uprkos dobro kontrolisanom IOP.
 - Tretman IM citikolinom 1 g dnevno tokom 10 dana značajno je poboljšao perimetrijsku situaciju u većini očiju, na osnovu smanjenja skotomatoznog područja i smanjenja srednjeg perimetrijskog defekta.
 - Blagotvorni efekti su zavisili od tretmana i održavali su se najmanje tri meseca; povoljni efekti su ponovo dobijeni pri ponovnom lečenju, što sugeriše da se primena citiholina mora periodično ponavljati za optimalan efekat.
 - Ovo je bila prva potvrda da suplementacija citiholinom može pozitivno da modifikuje oštećenje glaukomatoznog optičkog nerva.

Dokazi iz kliničkih studija II/VIII

- U narednoj studiji istih istraživača, zaštitni efekti ponovljenih ciklusa terapije citiholinom (1 g IM tokom 15 dana, svakih 6 meseci) u sprečavanju progresije perimetrijskog deficita su održani tokom 10 godina praćenja .
- Citiholin je smanjio frakciju pogoršanja vidnog polja ($\leq 10\%$ naspram $\geq 50\%$ kod lečenih pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu, $p = 0,007$) i značajno poboljšao osetljivost mrežnjače ($p < 0,05$), koja je ostala stabilna tokom lečenja.

Dokazi iz kliničkih studija III/VIII

- Druge placebo kontrolisane studije su pokazale retinalne i kortikalne odgovore kod pacijenata sa glaukomom koji su lečeni dvomesečnim IM citiholinom, uz dalje poboljšanje vizuelne funkcije kada se tretman ponovi nakon perioda bez citiholina.
- IOP je kontrolisan lokalnim β -blokatorima u obe grupe lečenja.
- Prednosti su se zadržale nakon osam godina praćenja kada su ovi pacijenti nastavili sa IM citikolinom u ciklusima od 2 meseca lečenja nakon čega je usledilo 4 meseca ispiranja.
- Poboljšanja parametara VEP i PERG postignuta sa početnim ciklusom lečenja su opala tokom perioda *washout*, bez vraćanja na početne nivoe, i dalje poboljšana sa narednim ciklusima ($p < 0,01$ u odnosu na početnu liniju i placebo).
- Ovi podaci ukazuju na mogućnost da citikolin stabilizuje ili poboljša glaukomatoznu vizuelnu funkciju u kombinaciji sa konvencionalnom očnom antihipertenzivnom terapijom.

Dokazi iz kliničkih studija IV/VIII

- Malo je verovatno da će IM terapija biti poželjan način primene kod pacijenata sa hroničnom bolešću kao što je glaukom.
- **Oralna primena citiholina**, za koju se čini da ima minimalne neželjene efekte, smatra se poželjnijom jer poboljšava komplijansu uz zadržavanje centralne koristi koju ne pruža lokalna primena, i može biti bolja od bilo kojeg alternativnog načina primene u usporavanju ili prevenciji centralna neuralna degeneracija.
- Klinička studija *Rejdak et al.* bio je prvi koji je istražio efikasnost citiholina oralnom primenom;
 - Pacijenti su lečeni **tabletama koje sadrže 500 mg aktivnog sastojka**, davane dva puta dnevno tokom dva dvonedeljna kursa.
 - Citiholin je normalizovao VEP u poređenju sa početnom linijom u 62% očiju sa glaukomom, pri čemu je latencija VEP smanjena sa 123,5 ms na 119,9 ms ($p < 0,001$) i amplituda VEP povećana sa 6,56 mV na 7,88 mV ($p < 0,05$).

Dokazi iz kliničkih studija V/VIII

- Studija *Parisi et al.* koji su upoređivali oralni (1600 mg/dan) i IM (1000 mg/dan) citiholin tokom dva 60-dnevna perioda lečenja kod pacijenata sa glaukomom sa umerenim oštećenjima vida, otkrili su objektivno procenjena poboljšanja u funkciji mrežnjače i neuronske provodljivosti duž vizuelnih puteva za oba puta primene, potvrđujući efikasnost citiholina preferiranim oralnim putem.
 - Delimična regresija se desila nakon dva, 120-dnevna perioda bez terapije (*washout*), što sugeriše da je nastavak suplementacije neophodan za održavanje potencijalnih neuroprotektivnih efekata citiholina kod glaukoma.
- Produženje terapije do osam godina stabilizovalo je ili dodatno poboljšalo glaukomatoznu vizuelnu disfunkciju.

Dokazi iz kliničkih studija VI/VIII

- Činilo se da oralni citiholin ima neuroprotektivnu aktivnost kod pacijenata sa hroničnim POAG (*primary open-angle glaucoma*).
- Pacijenti sa hroničnim glaukomom otvorenog ugla lečeni su oralnim citikolinom od 500 mg dnevno ili placebom tokom tri ciklusa od 60 dana razdvojenih periodima *washout* od 30 dana.
 - Srednja amplituda VEP se povećala do kraja svakog ciklusa tretmana i umereno regresirala do kraja svakog perioda *washout*.
 - Retinohortikalno vreme je značajno smanjeno tokom lečenja citikolinom.
 - Amplituda VEP i retinokortikalno vreme ostali su nepromenjeni u placebo grupi.

Dokazi iz kliničkih studija VII/VIII

- Drugi dokazi o dugoročnim prednostima citiholina oralnom primenom su prikazani kod pacijenata sa napredovanjem POAG uprkos kontrolisanom IOP.
- Oralni citiholin od 500 mg dnevno u ciklusima od 4 meseca razdvojenih dvomesečnim *washout* značajno je usporio stopu progresije glaukoma tokom dvogodišnje studije.
- Na početku, svi pacijenti su imali progresivno smanjenje (najmanje -1 dB/godišnje) parametara vidnog polja tokom prethodne tri godine, a IOP kontrolisan na <18 mmHg.
- Stopa progresije glaukoma značajno se smanjila tokom lečenja na srednju vrednost od $-0,15 \pm 0,3$ dB/godišnje na kraju studije ($p = 0,01$).

Dokazi iz kliničkih studija VIII/VIII

- Efikasnost oralnog citiholina u usporavanju progresije glaukoma potvrđena je dvogodišnjim rezultatima studije koja je procenjivala i funkcionalnu (standardna automatizovana perimetrija belo na belom (SAP)) i morfološka (optička koherentna tomografija (OTC)) parametri kod 60 pacijenata sa POAG glaukomom.
 - Zanimljivo je da su se efekti razvijali polako tokom vremena i postali su značajno drugačiji u poređenju sa kontrolama tek nakon više od godinu dana lečenja, što sugerise da je produžena terapija neophodna za postizanje klinički značajnih rezultata.
 - Posle 18 meseci, srednja devijacija srednjih vrednosti SAP bila je značajno veća u grupi koja je primala citiholin, u poređenju sa kontrolom, i ostala je stabilna tokom vremena, dok su vrednosti nastavile da opadaju u kontrolnoj grupi.
 - Debljina sloja retinalnih nervnih vlakana i debljina kompleksa ganglijskih ćelija takođe su značajno poboljšane terapijom citiholinom.

Citiholin koji se primenjuje lokalno - kapi za oči

- Pokazalo se da citiholin koji se primenjuje lokalno kao kapi za oči poboljšava funkciju mrežnjače i nervnu provodljivost duž vizuelnog puta.
- Nakon lokalnog tretmana citiholinom, povećanje bioelektričnih odgovora retine i bioelektrične aktivnosti vizuelnog korteksa demonstrirano je povećanjem amplitude PERG i skraćanjem implicitnog vremena VEP-a.
- Efekti na vizuelne parametre bili su slični onima primećenim kod oralnog citiholina.
- Formulacije kapi za oči zahtevaju pojačivače penetracije da bi se obezbedio dovoljan nivo citiholina u staklastom telu, što povećava verovatnoću neželjenih događaja, za razliku od oralno primenjenog citiholina, kod kojih su neželjeni efekti minimalni ili odsutni.
- Oralna primena citiholina pruža centralnu korist koju ne može dati lokalni oblik.
- Dodavanje drugog leka u formulu kapi za oči nije idealno i može ugroziti komplijansu.

Enhancement of Retinal Function and of Neural Conduction Along the Visual Pathway Induced by Treatment with Citicoline Eye Drops in Liposomal Formulation in Open Angle Glaucoma: A Pilot Electrofunctional Study

Abstract

Introduction: To evaluate the retinal function and the relative neural conduction along the visual pathway after treatment with citicoline in liposomal formulation (CLF) eye drops in patients with open angle glaucoma (OAG).

Methods: Twelve OAG patients (mean age $\pm$ standard deviation 52.58 ± 11.39 years, intraocular pressure < 18 mmHg under topical hypotensive treatment, Humphrey field analyzer mean deviation -4.49 ± 2.46 dB) were enrolled. Only one eye of studied patients was treated with CLF eye drops (OMK1-LF®, Omikron Italia, 3 drops/day) (CLF group, 12 eyes) over a period of 4 months. In CLF eyes, pattern electroretinogram (PERG), visual evoked potentials (VEP), and visual field test were assessed at baseline and at the end of treatment (month 4).

Results: After treatment with CLF eye drops, a significant increase of PERG P50-N95 amplitude and a significant shortening of VEP P100 implicit time were found. In CLF eyes, the shortening of VEP P100 implicit time was significantly correlated with the increase of PERG P50-N95 amplitude.

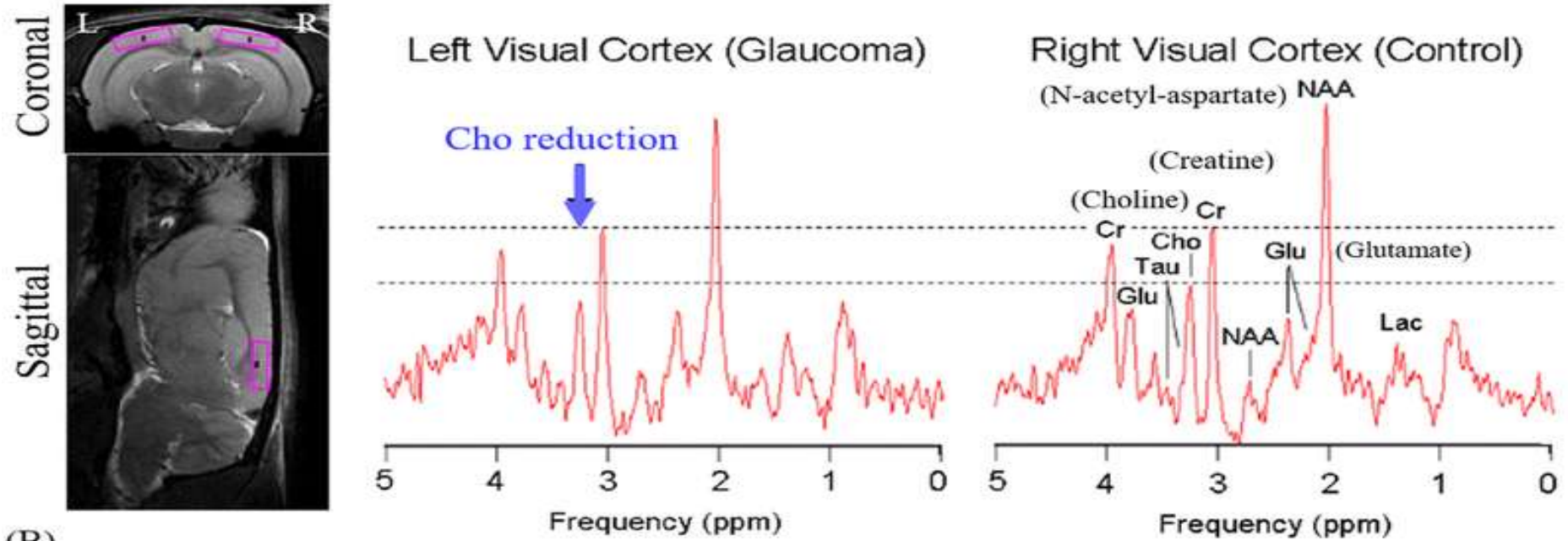
Conclusion: **Data from this pilot study suggest that treatment with CLF eye drops induces an enhancement of the retinal bioelectrical responses (increase of PERG amplitude) with a consequent improvement of the bioelectrical activity of the visual cortex (shortening of VEP implicit time).**

Trijada koja sumira biohemijske i biološke aktivnosti citiholina na neurodegeneraciju

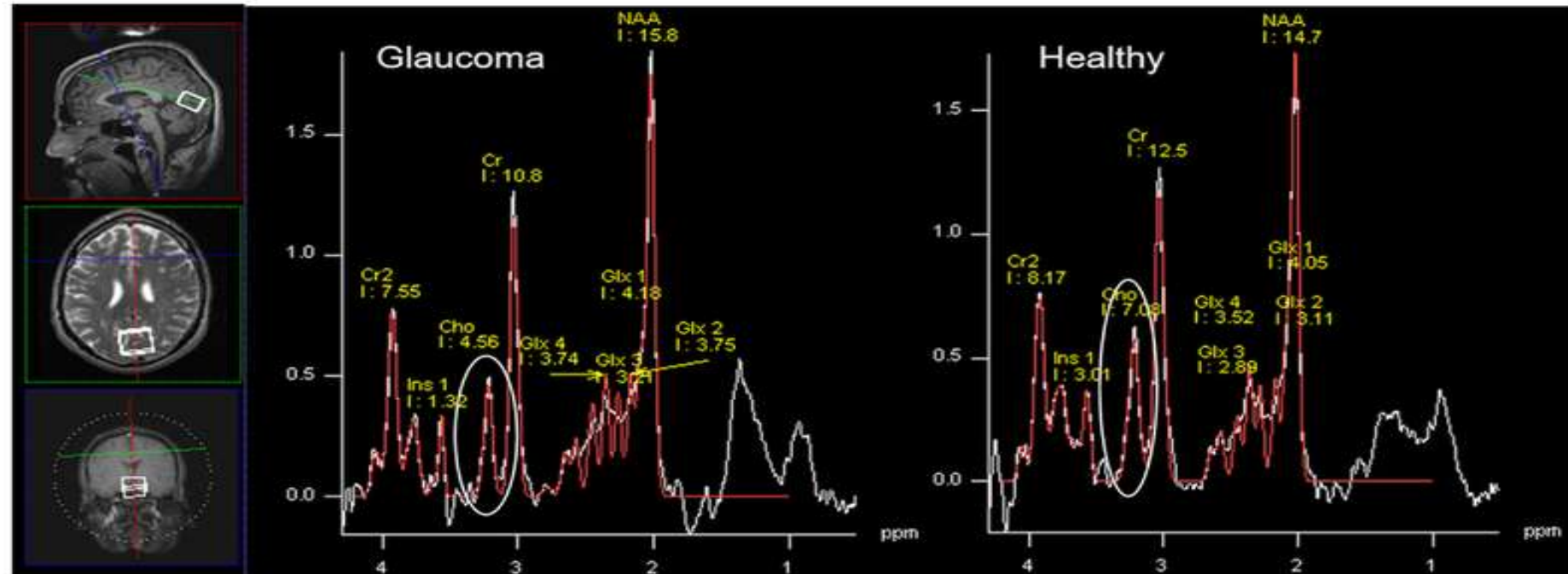
1. Citiholin štiti neoštećene aksone – neuroprotektivnu aktivnost (smanjenje neurotoksičnosti izazvane glutamatom).
2. Citiholin spasava delimično oštećene neurone — neurorestorativna aktivnost (reintegracija oštećenih neurona na membranu).
3. Dokazi iz *in vitro* studija podržavaju sposobnost citiholina da regeneriše neuronske ćelije – regenerativna aktivnost (biosinteza strukturnih komponenti ćelijske membrane).

MR Spectroscopy of Neurochemistry in Visual Cortex in Glaucoma

(A)



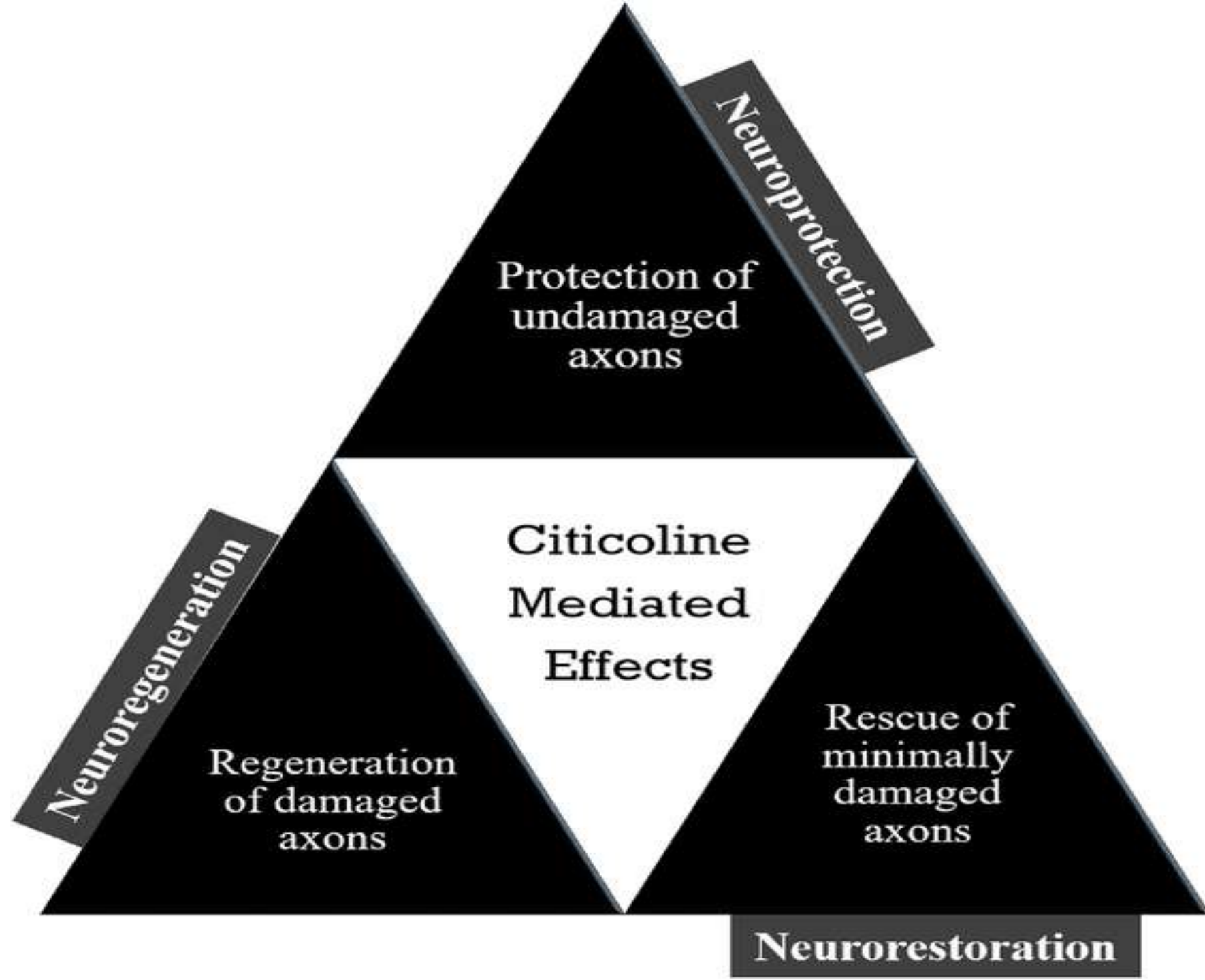
(B)



In vivo metabolic assessments of the brain in glaucoma

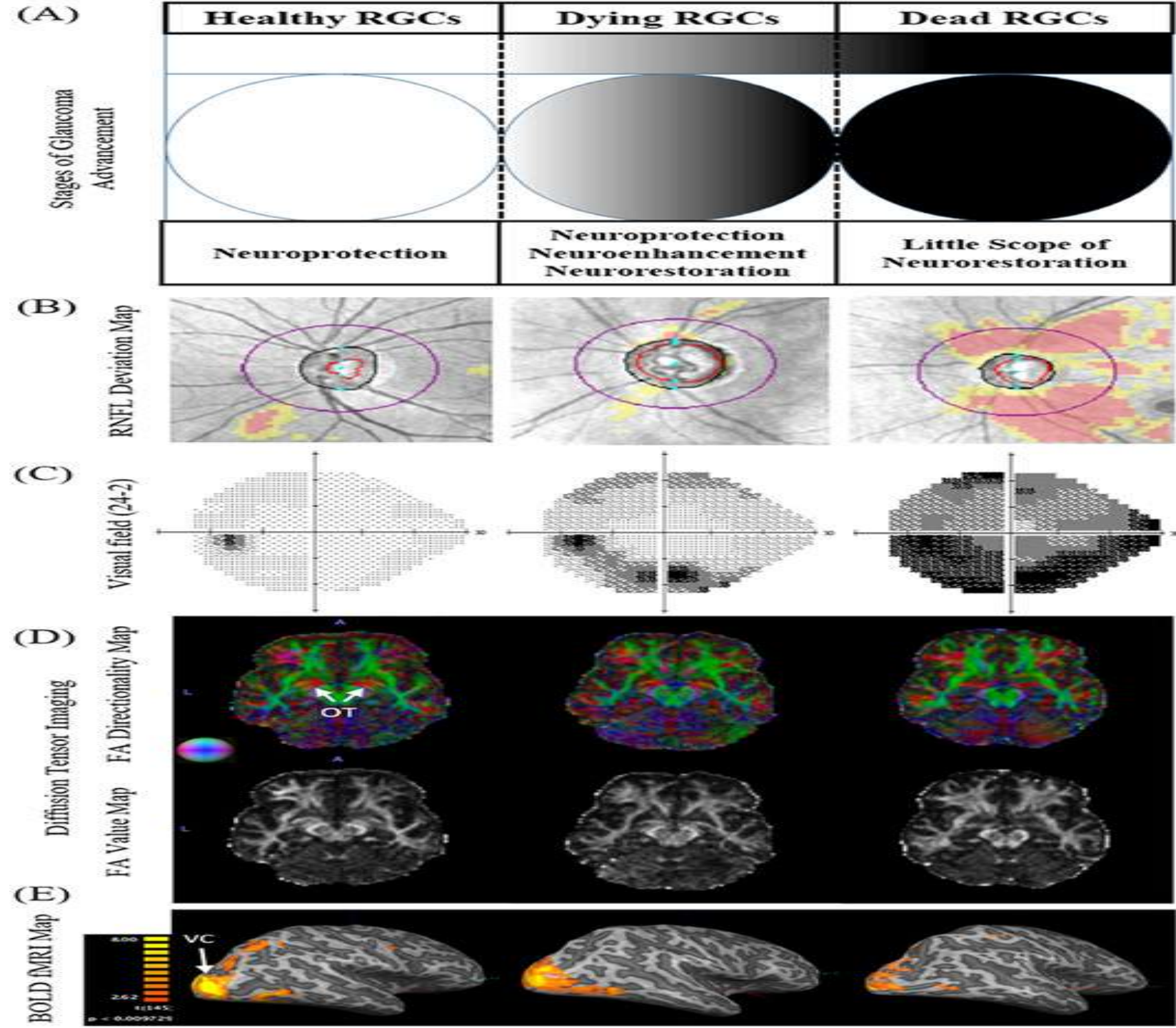
Faiq MA, Wollstein G, Schuman JS, Chan KC. Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications. *Prog Retin Eye Res.* 2019 Sep;72:100767.

The classical triad of citicoline actions on neurodegeneration



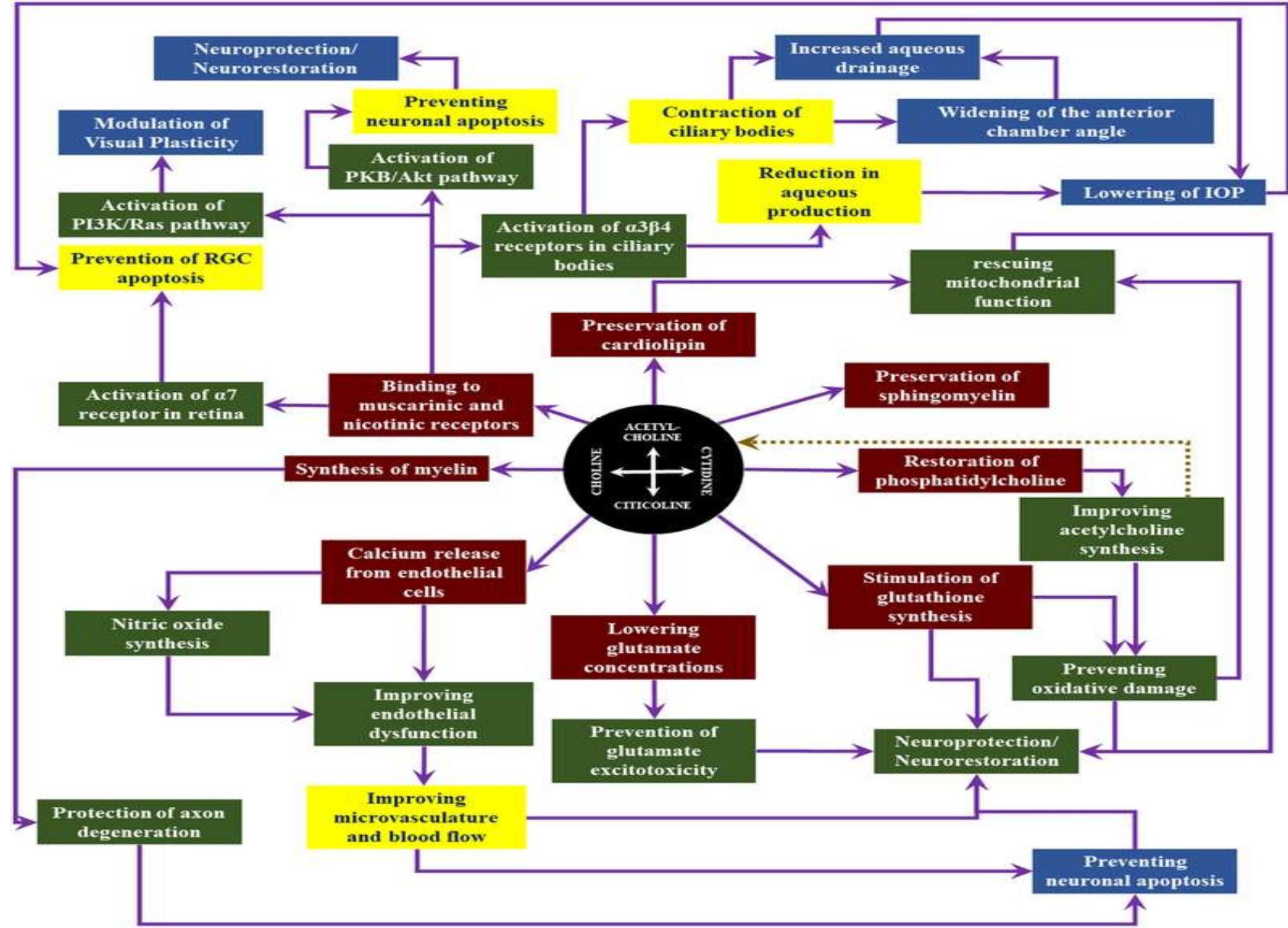
Faiq MA, Wollstein G, Schuman JS, Chan KC. Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications. *Prog Retin Eye Res.* 2019 Sep;72:100767.

Representation of various severity of ocular and central vision loss in glaucoma and the candidate plan for neurotherapeutic intervention

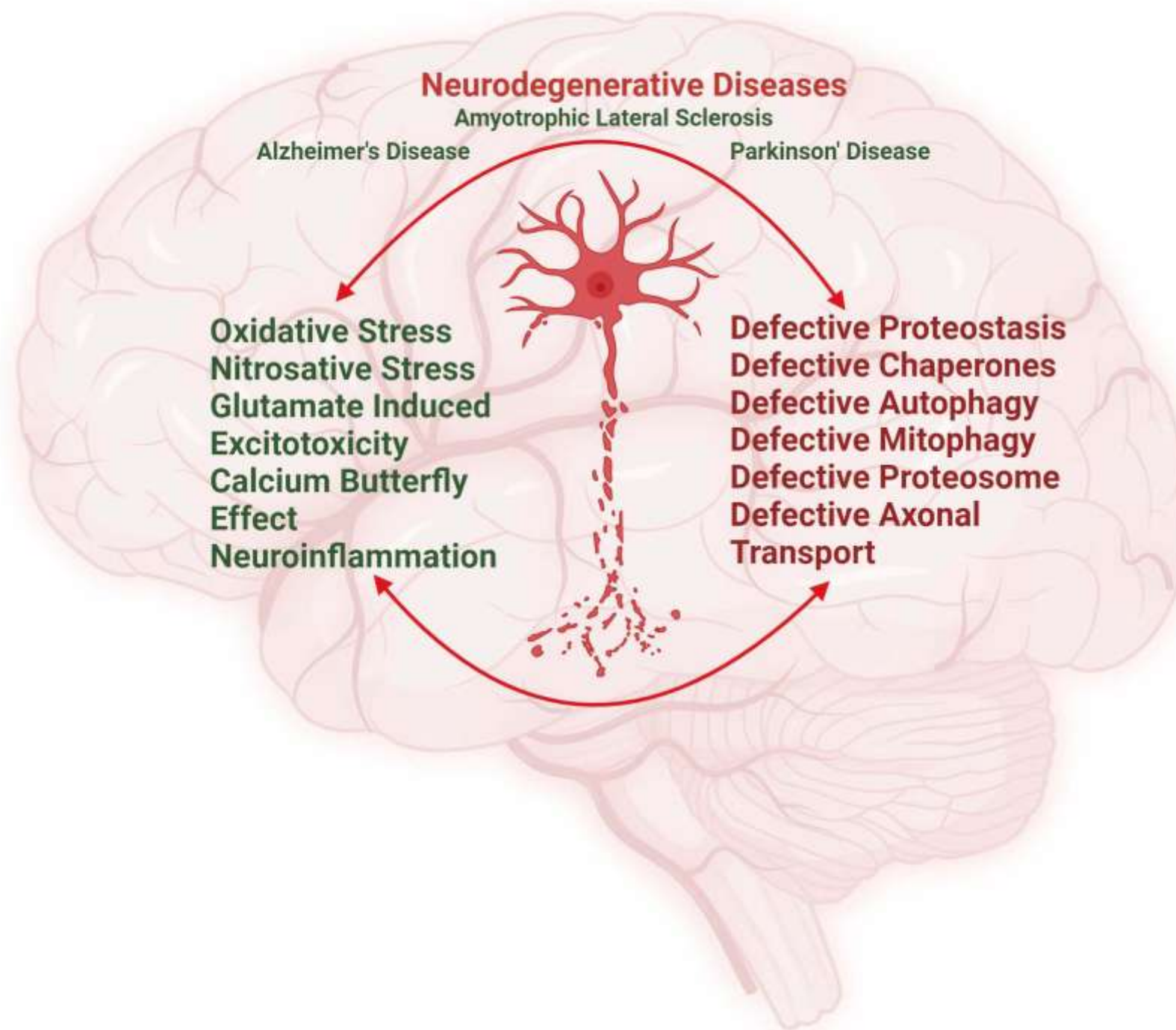


Faiq MA, Wollstein G, Schuman JS, Chan KC. Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications. *Prog Retin Eye Res.* 2019 Sep;72:100767.

Overview of the involvements of cholinergic metabolism in neuroprotection, neurorestoration and vision rehabilitation in both basic and clinical domains



Faiq MA, Wollstein G, Schuman JS, Chan KC. Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications. *Prog Retin Eye Res.* 2019 Sep;72:100767.



Schematic summary of the main ocular benefits of citicoline and CoQ10 in different ocular pathologies

- ERG: electroretinogram;
- mfERG: multifocal electroretinogram;
- pERG: pattern electroretinogram;
- RGC: retinal ganglion cell;
- ROS: reactive oxygen species;
- RNFL: retinal nerve fiber layer;
- VEGF: vascular endothelial growth factor ;
- VEP: visual evoked potential.

García-López C, García-López V, Matamoros JA, Fernández-Albarral JA, Salobar-García E, de Hoz R, López-Cuenca I, Sánchez-Puebla L, Ramírez JM, Ramírez AI, et al. The Role of Citicoline and Coenzyme Q10 in Retinal Pathology. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(6):5072.

