

ВПЛИВ ТРАНСКРАНІАЛЬНОГО ПОДРАЗНЕННЯ СТРУКТУР МОЗКУ ЩУРІВ ПОСТІЙНИМ СТРУМОМ НА СУДОМИ, ВИКЛИКАНІ ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОЛОМ

Надійшла 15.12.15

У щурів із синдромом кіндлінгу, індукованим уведеннями пентилентетразолу (ПТЗ; 30.0 мг/кг, внутрішньоочеревинно протягом трьох тижнів), латентні періоди судом, викликаних тест-уведеннями 30 мг/кг ПТЗ, ставали після транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС; 600 мкА, 15.0 хв, катод на поверхні черепа), орієнтованого на кору мозочка, в середньому на 37.5 % більшими, ніж у контролі ($P < 0.05$). Така стимуляція попереджувала виникнення генералізованих клоніко-тонічних судом; тривалість іктальних розрядів у структурах мозку зменшувалась у середньому на 42.1 % ($P < 0.02$). Латентні періоди гострих ПТЗ-викликаних (60.0 мг/кг) судом у щурів, не підданих процедурі вироблення кіндлінгу, в разі застосування ТППС мозочка були більшими в середньому на 33.5 % ($P < 0.05$), ніж у контролі. Аналогічне подразнення, орієнтоване на фронтальні відділи кори головного мозку, попереджало розвиток генералізованих судом у половини «кіндлінгових» щурів ($P < 0.05$).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: транскраніальне подразнення постійним струмом (ТППС), викликані пентилентетразолом судоми, кіндлінг, гострі судоми.

ВСТУП

У низці досліджень було виявлено, що транскраніальне подразнення постійним струмом (ТППС) структур головного мозку істотно впливає на генерацію різних видів епілептичної/епілептиформної активності. Такі подразнення зумовлювали в основному протисудомні ефекти [1–3]. Подібне подразнення, орієнтоване на структури мозочка – як кору, так і мозочкові ядра, – призводило до істотного пригнічення судомної активності [4, 5]. У той же час характер впливу ТППС різних структур мозку на судомну активність в умовах попереднього формування кіндлінгового епілептичного синдрому поки що не досліджувався.

У нашій роботі ми вивчали впливи ТППС, орієнтованого на кору мозочка та неокортекс, на судомну активність у щурів із кіндлінговим синдромом, виробленим за допомогою повторних ін'єкцій пентилентетразолу (ПТЗ), а також на гострі судоми, індуковані введеннями цього фармакологічного агента в контрольних щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження було виконано на 48 щурах-самцях лінії Вістар (маса тіла 180–250 г), яких утримували в стандартних умовах віварію.

Стан кіндлінгу формували за допомогою щоденних внутрішньоочеревинних (в/очер.) ін'єкцій ПТЗ («Sigma Aldrich», США) в дозі 30.0 мг/кг протягом трьох тижнів [5]. Судомну активність у таких тварин викликали одноразовим тест-уведенням (в/очер.) ПТЗ у такій самій дозі. Гостру судомну активність в інтактних щурів, не підданих процедурі вироблення кіндлінгу, викликали введенням 60 мг/кг ПТЗ.

Частці щурів, у яких формували стан кіндлінгу, імплантували ніхромові ізольовані, крім кінчика, електроди діаметром 0.15 мм у фронтальні відділи кори головного мозку (AP = 1.5; L = 1.8) та вентральний гіпокамп (AP = -4.3; L = 4.5; H = 8.0) правої півкулі згідно з координатами атласу [6]. Операцію проводили в умовах нембуталового наркозу (35.0 мг/кг, в/очер.). Таких щурів брали в експеримент через сім–10 днів від моменту втручання. ЕЕГ-активність відводили монополярно; референтний електрод закріплювали в носових кістках. Ви-

¹Одеський національний медичний університет МОЗ України (Україна).
Ел. пошта: godlevsky@odmu.edu.ua (Л. С. Годлевський).

користували комп'ютеризований електроенцефалограф «DX-4000-Practic» («DX-системи», Харків, Україна).

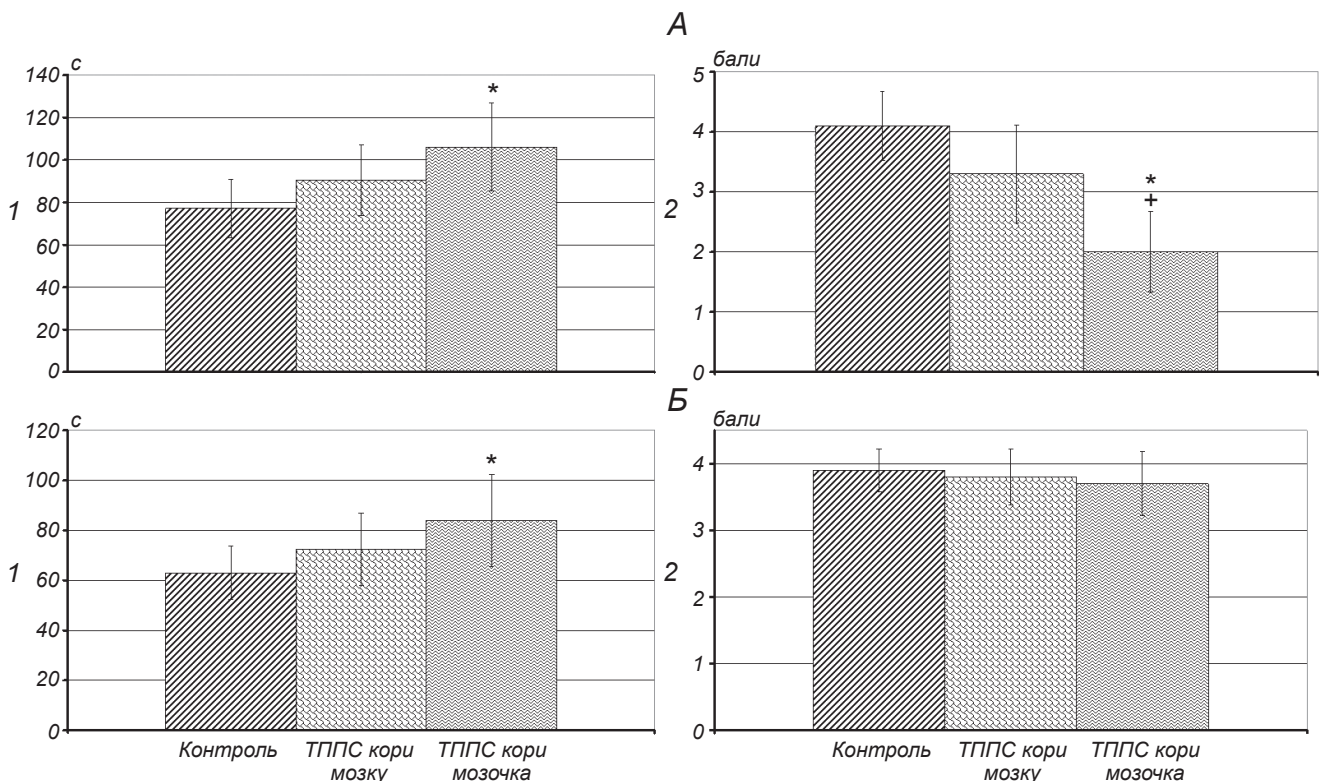
ТППС реалізували через електрод (катод) діаметром 3.5 мм, який можна було фіксувати на різних ділянках поверхні черепа щура за допомогою клейкої стрічки. Попередньо під електрод на поверхню депільованої шкіри голови наносили електропровідний гель [2]. Анод розміром 40×45 мм розміщували на шкірі живота щура. Постійний струм (600 мкА) пропускали протягом 15 хв; джерелом був модифікований генератор «ЭТРАНС». Згаданий вище активний електрод (катод) розташовували або по середній лінії каудально від лямбди, або на 2.0 мм зліва від брегми. Це дозволяло виконувати подразнення, орієнтоване на мозочок та кору великих півкуль відповідно. Щури контрольної групи піддавали всім маніпуляціям, пов'язаним з ТППС, за виключенням пропускання стимулюючого струму, тобто реалізувалася псевдостимуляція. Ін'єкції ПТЗ виконували через 10 хв від моменту припинен-

ня ТППС; стимульованих або псевдостимульованих щурів спостерігали протягом наступних 30 хв.

Статистичну обробку значень латентних періодів судом проводили з використанням дисперсійного аналізу (ANOVA) та критерію Ньюмена–Кеулса. Оцінки тяжкості судом та значення тривалості іктальних потенціалів порівнювали із результатами застосування критерію *U* Манна–Уїтні. Числові результати наведено у вигляді середньої величини та її похибки.

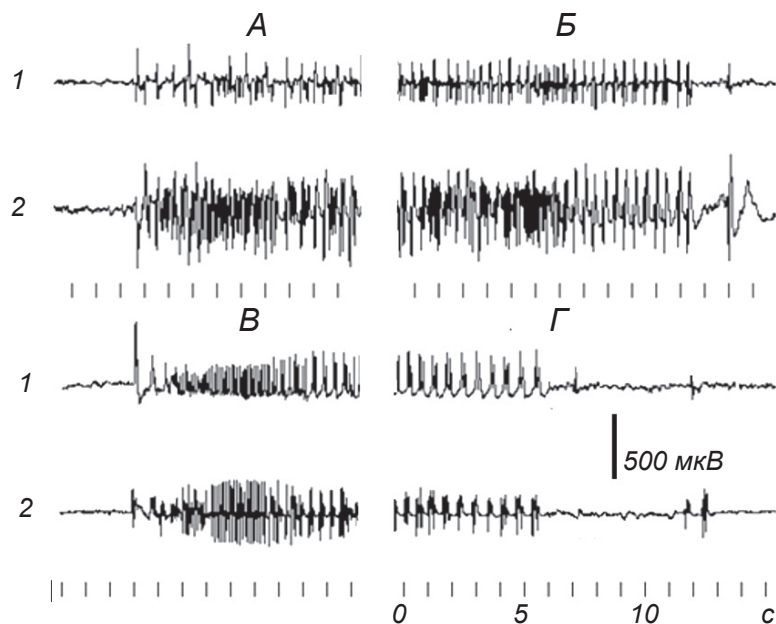
РЕЗУЛЬТАТИ

У щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом середнє значення латентного періоду ПТЗ-викликаних судом (тест-уведення 30.0 мг/кг ПТЗ, в/очер.) при застосуванні процедури псевдостимуляції складало 77.10 ± 4.38 с. У той же час відповідне значення у щурів, підданих ТППС неокортексу, дорівнювало 90.4 ± 5.26 с. Іншими словами, ТППС кори



Р и с. 1. Вплив транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) на кіндлінгові (А) та гострі (Б) провоковані пентилентетразолом судоми.

По осі абсцис – досліджувані групи щурів; по осі ординат – досліджувані показники: латентні періоди кіндлінгових (А, 1) і гострих (Б, 1) судом (с) та тяжкість кіндлінгових (А, 2) і гострих (Б, 2) судом (бали). Результати наведено у вигляді середнього значення із середньоквадратичним відхиленням. * $P < 0.05$ у порівнянні з контролем (псевдостимуляція); + $P < 0.05$ у порівнянні з групою, в якій проводили ТППС проекції кори головного мозку.



Р и с. 2. Вплив транскраніального подразнення мозку постійним струмом на характеристики викликаних пентилентетразолом (ПТЗ) електроенцефалографічних іктальних потенціалів у кіндлінгових щурів.

На *A* – 15.0 хв з моменту застосування ПТЗ (30.0 мг/кг, внутрішньоочеревинно); на *B* – через 17.0 с після *A* у щура групи контролю; на *B* – 20.0 хв з моменту застосування ПТЗ (30.0 мг/кг, внутрішньоочеревинно); на *Г* – через 5.0 с після *B* у кіндлінгового щура. 1 – кора головного мозку, 2 – вентральний гіпокамп. Відмітка часу 1 с (вертикальні лінії внизу фрагментів); калібровочний сигнал 500.0 мкВ.

мозку зумовлювало збільшення латентного періоду ПТЗ-викликаних судом у середньому на 17.3 % ($P > 0.05$). При цьому у п'яти з 10 кіндлінгових щурів генералізовані судомні напади не виникали ($P < 0.05$). ТППС, орієнтоване на кору мозочка, призводило до збільшення латентного періоду тест-судом у середньому на 37.5 % порівняно з контролем (77.10 ± 4.38 та 106.00 ± 6.56 с відповідно, $P < 0.05$). Реалізація ТППС призводила до усунення генералізованих судомних нападів у всіх експериментальних кіндлінгових тварин. Середня оцінка тяжкості судом у таких щурів була істотно (вдвічі) меншою, ніж така в контролі ($P < 0.05$). Щури, піддані процедурі ТППС мозочка, демонстрували вірогідно меншу інтенсивність тест-судом, ніж така у кіндлінгових щурів із ТППС кори головного мозку ($P < 0.05$) (рис. 1, *A*, 2). Середня тривалість іктальних епілептиформних розрядів складала у контрольних тварин (кіндлінгових щурів, не підданих процедурі ТППС) 37.8 ± 4.2 с (рис. 2, *A*). На тлі ж попереднього ТППС кори мозочка досліджуваний показник складав лише 21.9 ± 3.4 с ($P < 0.02$) (*B*). Якщо застосовувалося ТППС кори головного мозку, середнє значення тривалості іктальних епілептиформних ЕЕГ-розрядів було про-

міжним (30.3 ± 2.9 с, $P > 0.05$).

У щурів, у котрих не індукували розвиток стану кіндлінгу, гострі судомні, викликані ін'єкціями ПТЗ (в/очер.) у дозі 60 мг/кг, виникали із середнім латентним періодом 62.90 ± 3.39 с. Якщо ж попередньо проводили ТППС, орієнтоване на кору головного мозку, відповідний показник дорівнював 72.50 ± 4.55 с, тобто він був на 15.3 % більшим, ніж у контролі. Аналогічний вплив, орієнтований на кору мозочка, зумовлював збільшення латентного періоду тест-судом у середньому на 33.5 % ($P < 0.05$; 62.90 ± 3.39 та 84.00 ± 5.82 с відповідно; рис. 1).

ОБГОВОРЕННЯ

Отже, отримані в наших експериментах результати засвідчили, що транскраніальний вплив постійним струмом на структури мозку щурів забезпечує істотні протисудомні ефекти – збільшення латентних періодів ПТЗ-індукованих судом – як у тварин, підданих процедурі кіндлінгу, так і в разі індукції гострих ПТЗ-викликаних судом у інтактних тварин. Такі збільшення латентних періодів перших судом були помітно значнішими в умовах ТППС, орієнто-

ваного на кору мозочка (катод на черепі каудально від положення лямбди), ніж у разі ТППС, спрямованого на кору великих півкуль. ТППС кори мозочка також призводило до істотного зменшення тривалості іктальних розрядів у структурах головного мозку. Це свідчить про те, що у відповідних умовах реалізовувалися висхідні протисудомні впливи нейронних мереж мозочка на утворення як нео-, так і архікортексу. Можна припустити, що подібні впливи здійснюються завдяки певному зменшенню активності таламо-кортикального синхронізуючого механізму; це є наслідком розгальмування активності ядер мозочка, зокрема зубчастого ядра [4, 7]. Вплив ТППС при згаданому положенні катода може також зумовлювати зниження активності клітин Пуркін'є, котрі є єдиним еферентним виходом кори мозочка [8, 9]. Подібні протисудомні впливи, зумовлені подразненнями кори мозочка (зокрема, в умовах магнітостимуляції), були виявлені на моделі абсансної епілепсії [7], а також на моделях гострих вогнищевих форм епілепсії [1].

ТППС, орієнтоване на кору головного мозку, також зумовлювало помітні протисудомні впливи, хоча і дещо меншої інтенсивності, ніж такі при стимуляції мозочка. Це також виявлялось у зниженні тяжкості ПТЗ-індукованих кіндлінгових судом. Подібний результат може свідчити про певне пригнічення нейронної активності в корі мозку під впливом ТППС зі згаданою вище конфігурацією електродів і, відповідно, збільшення порога «епілептичного» збудження нейронів неокортексу [2].

Як уже зазначалося, ТППС структур головного мозку зумовлює досить істотні протисудомні впливи не тільки у кіндлінгових щурів, а й у разі гострих ПТЗ-індукованих судом у інтактних тварин.

Усі стадії дослідження відповідали положенням Європейської Конвенції про захист тварин, які використовуються в наукових цілях (86/609/ЄЕС 1986, Страсбург), та нормативам Комітету з біоетики Одеського національного медичного університету МОЗ України.

Автори даної роботи – Л. С. Годлевський, О. М. Ненова, М. П. Первак, Т. В. Приболовець та К. А. Біднюк – підтверджують відсутність будь-яких конфліктів щодо комерційних або фінансових відносин, відносин з організаціями або особами, котрі будь-яким чином могли бути пов'язані з дослідженням, а також взаємовідносин співавторів статті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. W. P. Chang, H. C. Lu, and B. C. Shyu, "Treatment with direct-current stimulation against cingulate seizure-like activity induced by 4-aminopyridine and bicuculline in an *in vitro* mouse model," *Exp. Neurol.*, **265**, 180-192 (2015).
2. S. C. Dhamne, D. Ekstein, Z. Zhuo, et al., "Acute seizure suppression by transcranial direct current stimulation in rats," *Ann. Clin. Transl. Neurol.*, **2**, 843-856 (2015).
3. G. Grimaldi, G. P. Argyropoulos, A. Bastian, et al., "Cerebellar transcranial direct current stimulation (ctDCS): A novel approach to understanding cerebellar function in health and disease," *Neuroscientist*, **22**, 83-97 (2016).
4. K. van Dun, F. C. A. A. Bodranghien, P. Mariën, and M. U. Manto, "tDCS of the cerebellum: where do we stand in 2016? Technical issues and critical review of the literature," *Front. Human Neurosci.*, publ.: May 11, 2016, doi: 10.3389/fnhum.2016.00199.
5. L. S. Godlevsky, T. N. Muratova, N. V. Kresyun, et al., "Anxiolytic and antidepressive effects of electric stimulation of the paleocerebellar cortex in pentylenetetrazol kindled rats," *Acta Neurobiol. Exp.*, **74**, 456-464 (2014).
6. G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Acad. Press, Sydney (1998).
7. L. S. Godlevsky, E. V. Kobolev, E. van Luijtelaa, et al., "Influence of transcranial magnetic stimulation on spike-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy," *Ind. J. Exp. Biol.*, **44**, 949-954 (2006).
8. T. Tanaka, Y. Takano, N. Hironaka, et al., "Transcranial direct-current stimulation increases extracellular dopamine levels in the rat striatum," *Front. Syst. Neurosci.*, Apr. 11, 2013, <https://doi.org/10.3389/fnsys.2013.00006>.
9. S. J. Pelletier and F. Cicchetti, "Cellular and molecular mechanisms of action of transcranial direct current stimulation: evidence from *in vitro* and *in vivo* models," *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **18**, No. 2: pyu047 (2015), doi: 10.1093/ijnp/pyu047.