

sites distant from oral infection: bacterial persistence and induction of cells specific innate inflammatory pathways. *Mol. Oral. Microbiol* 5(25): 305-316

5. Deev RV, Isaev AA, Kochish AYU, Tihilov RM (2016) Kletochnyie tehnologii v travmatologii i ortopedii: puti razvitiya. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya injeneriya* 3(6): 22-33 [in Russian]

6. Poriadok provedennia naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh. *Ofitsiinyi visnyk Ukrainy. Ofits. vyd.* (2012) 24:82 [in Ukrainian]

7. Bahrii MM, Dibrova VA, Popadynets OH, Hryshchuk MI *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen: monohrafiia.* Vinnytsia: Nova knyha (2016):328 [in Ukrainian]

Первак Михаил Павлович

*ассистент кафедры симуляционной медицины
Одесский национальный медицинский университет*

ОСОБЕННОСТИ ЦИКЛА БОДРСТВОВАНИЕ – СОН У КРЫС С ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОЛ (ПТЗ)-ВЫЗВАННЫМ КИНДЛИНГОМ В УСЛОВИЯХ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ ПОСТОЯННЫМ ТОКОМ (ТСПТ)

Pervak M.P.

*assistant of the department of simulation medicine
Odessa national medical university*

CHARACTERISTICS OF WAKEFULNESS – SLEEP CYCLE IN RATS WITH PENTYLENETETRAZOL (PTZ) – INDUCED KINDLING UNDER CONDITION OF TRANSCRANIAL CONSTANT CURRENT STIMULATION (TCCS)

Аннотация: У крыс линии Вистар воспроизвели киндлинговые судороги путем повторных введение пентилентетразола (30,0 мг/кг, в/бр) на протяжении трех недель. Исследовали показатели цикла бодрствование – сон в условиях транскраниальных стимуляций постоянным током (ТСПТ, 600 мкА в течение 15 мин) фронтальных отделов коры и коры мозжечка. Животным группы контроля осуществляли ложные стимуляции. ТСПТ катодом фронтальных отделов коры мозга у киндлинговых животных достоверно уменьшало число циклов сна на 23,7 %, в то время как ТСПТ анодом вызывало увеличение латентного периода парадоксального сна на 57,1 %, увеличение его продолжительности на 41,2 %, а также редуцировало число циклов сна на 34,5 %. ТСПТ катодом мозжечка у киндлинговых животных сопровождается достоверным возрастанием латентного периода парадоксального сна на 46,7 %, в то время как ТСПТ анодом вызывает увеличение продолжительности парадоксального сна на 34,2 %, а также уменьшает число циклов сна 27,6 %. Под влиянием ТСПТ анодом достоверно увеличивается латентный период засыпания животных в сравнении со стимуляцией, осуществляемой катодом.

Summary: Kindled seizures were induced in Wistar rats via daily pentylenetetrazol (30,0 mg/kg, i.p.) during three weeks. Indices of wakefulness-sleep cycles were investigated after transcranial constant current stimulation (TCCS, 600 mcA during 15 min) of frontal cortex and cerebellum. Control rats received false stimulations. It was established that TCCS with cathode of frontal cortex in kindled rats significantly reduced the number of sleep cycles – by 23,7 %, while TCCS with anode induced the increasing of paradoxal sleep latency by 57,1 % as well as both increasing of it's duration by 41,2 % and reduction of the sleep cycles number by 34,5 %. Cerebellar TCCS with cathode in kindled rats was followed with the significant increasing of the paradoxal sleep latency by 46,7 %, while TCCS with anode caused the increasing of the paradoxal sleep duration by 34,2 %, and reduced the number of sleep cycles by 27,6 %. TCCS with anode significantly raised the latency of falling rats into sleep when compared with the group stimulated with cathode.

Ключевые слова: транскраниальная стимуляция постоянным током, киндлинг, судорожная активность, цикл бодрствование-сон, пентилентетразол.

Key words: transcranial constant current stimulation, kindling, seizure activity, wakefulness- sleep cycle, pentylenetetrazol.

Введение. Формирование хронического эпилептического синдрома с помощью повторных введений пентилентетразола (ПТЗ) в подпороговой дозе сопровождается нарушениями цикла сон-бодрствование [1, 6]. Одной из структур мозга, которая оказывает модулирующее влияние на возникновение и развитие эпилептиформных проявлений, а также на характеристики сна и бодрствования, является мозжечок [3, 5, 9]. В последнее время установлено, что транскраниальная стимуляция посто-

янным током (ТСПТ) коры мозга вызывает коррекцию цикла бодрствование – сон [2, 7, 10], а ТСПТ мозжечка сопровождается развитием противосудорожного эффекта на модели ПТЗ-индуцированного киндлинга [3, 5].

Поэтому целью настоящего исследования было определение характеристик цикла бодрствование – сон у крыс с ПТЗ-индуцированным киндлингом в условиях ТСПТ мозжечка, проводимого как с помощью катода, так и анода.

Материал и методы исследования. Экспериментальные исследования проведены в условиях хронического эксперимента на крысах – самцах (30 животных) линии Вистар массой 180 - 270 г, которых содержали в стандартных условиях вивария Одесского национального медицинского университета. Эксперименты проводили в строгом соответствии с требованиями GLP и с разрешения комиссии по биоэтике при Одесском национальном медицинском университете (протокол № 84 от 10 октября 2008 г.).

Киндлинг воспроизводили путем однократных ежедневных введений субконвульсивной дозы ПТЗ (30,0 мг/кг, в/бр) («Sigma-Aldrich», США) в течение трех недель [3, 5]. Для наблюдений отбирали крыс, у которых три последние инъекции вызывали генерализованные клонико-тонические судорожные приступы в ответ на каждую из инъекций. Тяжесть судорог оценивали по пятибалльной шкале [3, 5].

Воздействие ТСПТ осуществляли через 24 ч с момента последней инъекции ПТЗ с помощью электрода диаметром 3,5 мм, который фиксировали с помощью клейкой ленты по средней линии каудально от ламбды, что позволяло выполнять стимуляцию, ориентированную на мозжечок, или на 2,0 мм слева от брегмы, что позволяло стимулировать фронтальные отделы коры головного мозга. Предварительно под электрод на поверхность депилированной кожи наносили электропроводящий гель [3, 5]. Электрод противоположной полярности размером 40x45 мм размещали на животе крысы. Постоянный ток (600 мкА) пропускали в течение 15

мин., источником был модифицированный генератор «ЭТРАНС».

Крысам контрольных групп (псевдостимулированные интактные и псевдостимулированные киндлинговые животные) проводили все связанные с ТСПТ манипуляции за исключением пропуска стимулирующего тока.

Крыс наблюдали непрерывно индивидуально на протяжении 4 ч. в условиях их свободного поведения и в условиях одинаковой степени освещенности и шума (с 11.00 по 15.00). В соответствии с поведенческими характеристиками идентифицировали следующие показатели цикла бодрствование – сон: активное и пассивное бодрствование, медленноволновой сон (МВС), парадоксальный сон (ПС). Кроме того, определяли латентный период (ЛП) засыпания и парадоксального сна (ЛП ПС) [1].

Оценку результатов исследований проводили с применением статистических критериев - ANOVA + Newmann - Keuls, а также критерия У Вилкоксона Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение.

У животных с развившимся киндлинг – синдромом длительность бодрствования была незначительно (на 13,4 %) меньше, чем в контроле ($P>0,05$). Продолжительность МВС увеличивалась на 11,5 % ($P>0,05$), а ПС уменьшалась на 27,1% ($P<0,05$). ЛП засыпания и ЛП ПС сокращались на 18,7% ($P>0,05$) и на 14,9% ($P>0,05$) соответственно. Число циклов сна на 54,1% превышало показатель в группе контроля ($P<0,05$) **Таблица**

Показатели цикла бодрствование – сон у крыс в условиях ТСПТ структур мозга ($M \pm m$)

| № п/п | Группы наблюдения | Число крыс | Исследуемые показатели | | | | | Число циклов сна |
|---|---|------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------|------------------|
| | | | Бодрство-вание | Медленно волновой сон (МВС) | Парадоксальный сон (ПС) | Латентный период (ЛП) ПХС | ЛП ПС | |
| 1 | Интактные крысы (псевдостимулированные) | 7 | 26,72±3,41 | 61,07±3,85 | 12,21±0,91 | 29,53±3,59 | 38,04±3,97 | 14,29±1,48 |
| 2 | Киндлинг (псевдостимулированные) | 8 | 23,00±3,33 | 68,13±3,74 | 8,87±0,89* | 24,0±3,67 | 32,38±4,44 | 21,13±1,76* |
| ТСПТ структур мозга интактных животных | | | | | | | | |
| Фронтальная кора | | | | | | | | |
| 3 | Катод | 7 | 22,14±2,69 | 64,86±3,02 | 13,00±1,15 | 26,39±2,90 | 49,34±4,88 | 11,14±1,06 |
| 4 | Анод | 8 | 36,69±2,98* | 52,56±2,58 | 10,75±1,16 | 34,25±3,07 | 59,56±5,67* | 15,00±1,09 |
| Мозжечок | | | | | | | | |
| 5 | Катод | 7 | 28,86±3,27 | 59,43±2,89 | 11,71±1,19 | 37,36±5,18 | 54,00±4,52* | 16,57±1,41 |
| 6 | Анод | 7 | 24,57±3,58 | 63,21±4,27 | 13,22±1,21 | 30,71±3,45 | 45,43±4,61 | 12,57±1,48 |

| ТСПТ структур мозга киндлинговых животных | | | | | | | | |
|---|-------|---|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| Фронтальная кора | | | | | | | | |
| 7 | Катод | 8 | 18,00± 3,51 | 70,00± 3,23 | 12,00± 1,39 | 22,63± 2,55 | 43,28± 3,67 | 16,13± 1,42 |
| 8 | Анод | 6 | 27,83± 3,37 | 58,00± 3,95 | 14,17± 1,52 | 28,83± 2,57 | 50,95± 4,24* | 13,70± 0,97 |
| Мозжечок | | | | | | | | |
| 9 | Катод | 7 | 26,14± 2,70 | 64,07± 2,81 | 9,79± 0,94 | 19,57± 1,89 | 46,07± 4,40 | 18,00± 1,53 |
| 10 | Анод | 7 | 23,07± 2,41 | 65,00± 3,59 | 11,93± 0,76* | 31,0± 2,47# | 37,14± 2,62 | 15,29± 1,11* |

Примечание: * - $P < 0,05$ в сравнении с соответствующей группой контроля; # - $P < 0,05$ в сравнении с аналогичным показателем в группе животных, которым ТПСТ проводили с помощью катода (метод ANOVA + тест Newman – Keuls). Показатели бодрствования, МВС и ПС приведены в относительных величинах, приняв период наблюдения (4 ч) за 100%, остальные показатели приведены в абсолютных значениях.

ТСПТ фронтальных отделов коры головного мозга интактных животных. ТППС коры мозга катодом сопровождалась незначительным сокращением периода бодрствования (на 16,6 %) ($P > 0,05$), увеличением МВС – на 4,5 % ($P > 0,05$), а также увеличением продолжительности ПС – на 13,9 % ($P > 0,05$). Одновременно сокращался ЛП засыпания – на 18,7 % ($P > 0,05$), а также возрастал ЛП ПС – на 29,5 % ($P > 0,05$). Число циклов сна снижалось на 18,0 % ($P > 0,05$).

При ТППС с помощью анода длительность бодрствования превышала такую в контроле на 38,3% ($P < 0,05$). При этом сокращалась длительность фаз МВС (на 14,7 %) ($P > 0,05$) и ПС – на 10,7 % ($P > 0,05$). ЛП засыпания возрастал на 17,5 % ($P > 0,05$), в то время как ЛП ПС увеличивался на 55,9 % ($P < 0,05$). Число циклов сна незначительно (на 9,4 %) возрастало ($P > 0,05$).

Продолжительность бодрствования увеличивалась на 65,9% ($P < 0,05$), а длительность фазы МВС сокращалась 18,2% ($P < 0,05$) у животных с ТППС, проводимой с помощью анода в сравнении с таковой при применении катода.

ТСПТ мозжечка интактных животных. ТСПТ с помощью катода вызывала незначительное (на 8,4 %) увеличение фазы бодрствования ($P > 0,05$) при одновременном сокращении длительности МВС (на 2,9 %, $P > 0,05$) и ПС (на 4,0 %, $P > 0,05$). При этом латентный период засыпания увеличивался на 26,5% ($P > 0,05$), а ПС - на 41,5 % ($P < 0,05$). Число циклов сна увеличивалось на 9,4 % ($P > 0,05$).

ТСПТ с помощью анода вызывала незначительное (на 7,7 %, $P > 0,05$) сокращение фазы бодрствования, увеличение длительности МВС (на 3,3 %, $P > 0,05$), в то время как длительность ПС практически не менялась ($P > 0,05$). ЛП засыпания возрастал на 4,0%, ($P > 0,05$), а ПС – на 19,4 % ($P > 0,05$). Число циклов сна уменьшалось на 8,3 % ($P > 0,05$).

ТСПТ фронтальных отделов коры головного мозга киндлинговых животных. Стимуляция с помощью катода увеличивала длительность бодрствования на 17,6 % ($P > 0,05$), а также увеличивала МВС (на 2,6 %, $P > 0,05$). Длительность ПС, несмотря на значительное увеличение (на 23,7 %), не имела достоверных отличий в сравнении с контролем ($P > 0,05$). ЛП засыпания уменьшался на 5,7 % ($P > 0,05$), в то время как ЛП ПС возрастал на 21,7 % ($P > 0,05$). Число циклов сна снижалось на 23,7 % ($P < 0,05$).

ТСПТ с помощью анода вызывала увеличение фазы бодрствования на 24,6 % ($P > 0,05$) на фоне одновременного сокращения МВС на 13,9% ($P > 0,05$) и значительного (на 41,2 %, $P < 0,05$) увеличения длительности ПС. ЛП засыпания возрастал на 20,1% ($P > 0,05$), а также значительно (на 57,1 %, $P < 0,05$) увеличивался ЛП ПС. Число циклов сна снижалось на 34,5 % ($P < 0,05$).

ТСПТ мозжечка киндлинговых животных. Стимуляция с помощью катода вызывала незначительное (на 13,4 %, $P > 0,05$) увеличение длительности фазы бодрствования, сокращение МВС (на 6,1 %, $P > 0,05$) и увеличение фазы ПС на 10,1 % ($P > 0,05$). При этом сокращался ЛП засыпания на 18,5 % ($P > 0,05$) и увеличивался ЛП ПС (на 46,7 %, $P < 0,05$). Уменьшение числа циклов сна составило 14,8 % ($P > 0,05$).

ТСПТ с помощью анода не изменял длительность бодрствования, снижал продолжительность фазы МВС на 4,7 % ($P > 0,05$) и вызывал увеличение ПС на 34,2 % ($P < 0,05$). При этом наблюдалось увеличение ЛП засыпания (на 29,2 %, $P > 0,05$), а также ЛП ПС – на 14,7 % ($P > 0,05$). Число циклов сна снижалось на 27,6% ($P < 0,05$).

При стимуляции анодом ЛП засыпания достоверно - на 58,4% ($P < 0,05$) превышал аналогичный показатель, зарегистрированный при ТСПТ с помощью катода.

Таким образом, у животных со сформированным киндлинг – синдромом обнаруживаются особенности цикла бодрствование-сон, которые заключаются в сокращении общей продолжительности периода ПС, а также увеличение числа циклов сна, что соответствует результатам [1, 6]. Подобные нарушения могут свидетельствовать о снижении активности механизмов развития ПС, которые обеспечивают также снижение судорожной готовности мозга и противострессорную устойчивость [4, 8].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ТСПТ анодом фронтальных отделов коры головного мозга интактных крыс вызывает увеличение продолжительности общего периода бодрствования, а также ЛП ПС. Под влиянием ТСПТ катодом также отмечается возрастание ЛП ПС. При этом обнаруживается противоположная динамика при применении катода и анода в отношении таких показателей как длительности бодрствования, а также сокращения длительности ЛП МВС.

ТСПТ коры мозга киндлинговых крыс с помощью катода сопровождалось уменьшением числа циклов сна, в то время как ТСПТ с помощью анода вызывала увеличение ЛП ПС на фоне увеличения общей продолжительности ПС и снижения фрагментированности сна. ТСПТ структур мозжечка с помощью катода у животных с развившимся киндлингом сопровождается достоверным увеличением ЛП ПС, в то время как ТСПТ с помощью анода вызывала увеличение длительности ПС, снижение фрагментированности сна (числа циклов сна), а также увеличением ЛП засыпания животных.

Таким образом, у киндлинговых крыс возрастала роль мозжечка в отношении регуляции цикла сон-бодрствование, а при ТСПТ как коры, так и мозжечка более эффективным было применение анода.

Если для стимуляции фронтальной коры характерными были противоположные изменения ряда параметров при применении катода и анода, для стимуляции мозжечка подобная закономерность не наблюдалась. Подобные отличия возможно объяснить особенностями функциональной сети нейронов коры мозжечка, для которой характерным является превалирование торможения [4]. Таким образом, можно полагать, что возбуждающее действие, которое может быть достигнуто как при воздействии анода, так и катода, имеет своим следствием развитие тормозных процессов в коре мозжечка. Возможно, что в развитии постстимуляционных эффектов продолжительных стимуляций коры мозжечка принимают участие механизмы синаптической пластичности, в частности, длительной синаптической потенциации [9], которые обеспечивают нивелирование знака электрода, обеспечивающего подобные изменения.

Выводы: 1. Киндлинг-индуцированные нарушения цикла бодрствование-сон корректируются с помощью ТСПТ мозжечка, а также фронтальных отделов коры головного мозга.

2. Корректирующее влияние ТСПТ мозжечка в отношении цикла бодрствование – сон отмечаются при ТСПТ мозжечка у киндлинговых животных и отсутствует у интактных крыс.

3. Корректирующее влияние ТСПТ фронтальной коры в отношении цикла бодрствование – сон наблюдается у интактных крыс и снижается у киндлинговых животных.

4. ТСПТ с помощью анода более эффективно, чем ТСПТ с помощью катода в отношении коррекции киндлинг-индуцированных нарушений цикла бодрствование – сон.

Литература

1. Смірнов І.В. Особливості циклу неспання-спання у щурів на різних стадіях відтворення коразолового кіндлінгу// Одеський медичний журнал.- 2008.- №2.-С. 20- 22.

2. Application of transcranial direct current stimulation in neurorehabilitation: the modulatory effect of sleep/ J.K.Ebajemito, L.Furlan, C.Nissen, A.Sterr // Front. Neurol. 2016.- Vol. 7:54. doi: 10.3389/fneur.2016.00054

3. Effects of transcranial direct current stimulation of rat cerebral structures on pentylenetetrazole-induced seizures/ L.S. Godlevskly, O.M. Nenova, M.P. Pervak, et al.// Neurophysiology.- 2017.- Vol. 49, No. 4.- P. 272–275.

4. Elazar Z., Hobson J.A. Neuronal excitability control in health and disease / Z.Elazar, J.A.Hobson // Progr. Neurobiol. -1985. -Vol.85, N2. -P.141-188.

5. Godlevsky L.S., Pervak M.P. Peroxisomal proliferator-activated γ -receptors: participation in the anti-seizure effects of transcranial DC stimulation of the cerebellum / L.S. Godlevsky, M.P. Pervak// Neurophysiology.- Vol. 51, No. 1, January, 2019.- P.25-28.

6. Pentylenetetrazole kindling affects sleep in rats/ M.Schilling, W.Wetzel, G.Grecksch, A.Becker // Epilepsia.- 2006.- Vol. 47(12).-P.2075-2082.

7. Prefronto-cerebellar transcranial direct current stimulation improves sleep quality in euthymic bipolar patients: a brief report/ A.Minichino, F.S.Bersani, F.Spagnoli et al.,// Behavioural Neurology.- Volume 2014, Article ID 876521, 3 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/876521>

8. Rotenberg V.S. Functional deficiency of REM sleep and the role of this deficiency in the pathogenesis of neurotic and psychosomatic disturbances//Neurobiology of sleep- wakefulness cycle. Ed. By T.N.Oniani, Metsniereba, Tbilisi 1988.- P. 459- 464.

9. The Sleeping Cerebellum / C. B. Canto, Y. Onuki, B.Bruinsma et al. // Trends in Neurosciences, May 2017, Vol. 40, No. 5 P.309-323 <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2017.03.001>

10. Transcranial direct current stimulation (tDCS) in the context of sleep and insomnia / G. N. Rivera-Urbina, M.A. Nitsche, A.Molero-Chamizo // J Sleep Med Disord.- 2016.- Vol. 3(5): 1060.