УДК 616.3:502.55:620.26

© В.О. Полясний, Л.С. Годлевський, 2012.

ОСОБЛИВОСТІ ЦИКЛУ НЕСПАННЯ – СПАННЯ У КІНДЛІНГОВИХ ЩУРІВ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ КЕТОГЕННОЇ ДІЄТИ

В.О. Полясний, Л.С. Годлевський

Одеський національний медичний університет, кафедра біофізики, інформатики та медичної апаратури (зав.– проф. Л.С. Годлевський), м.Одеса.

PECULIARITIES OF SLEEP-WAKEFULNESS CYCLE IN KINDLED RATS UNDER CONDITION OF KETOGENIC DIET USAGE

V.O. Polyasny, L.S. Godlevsky

SUMMARY

Creation of the model of chronic brain epileptization via kindled corazol (30,0 mg/kg, i.p.) administrations was followed by the shortening of the wakefulness accompanied by the prolongation of the superficial slow-wave sleep and shortening of the paradoxal sleep. The concomitant shortening of the latency and increase of the number of paradoxal sleep cycles was seen as well. Four-weeks usage of ketogenic diet (80% of lipids, 3,3% of carbohydrates and 16,7% of proteins) was followed by the increase of wakefulness of kindled rats along with the shortening of superficial slow- wave sleep, restoration of the paradoxal sleep duration and decrease the number of it's cycles.

ОСОБЕННОСТИ ЦИКЛА БОДРСТВОВАНИЕ- СОН У КИНДЛИНГОВЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ КЕТОГЕННОЙ ДИЕТЫ

В.А. Полясный, Л.С. Годлевский

РЕЗЮМЕ

Создание киндлинговой модели хронической эпилептизации мозга введениями коразола (30,0 мг/кг, в/бр) сопровождалось сокращением фазы бодрствования при одновременном удлинении фазы поверхностного сна, сокращении фазы парадоксального сна. При этом также отмечалось сокращение латентного периода и увеличение фргаментированности парадоксального сна. Под влиянием четырехнедельного применения кетогенной диеты (80% липидов, 3,3% углеводов и 16,7% белков) отмечалось увеличение длительности фазы бодрствования киндлинговых крыс, сокращение поверхностного медленноволнового сна, восстановление продолжительности и уменьшение фрагментированности парадоксального сна.

Ключові слова: кіндлінг, епілептична активність, сон- неспання, кетогенна дієта.

Відтворення кіндлінгу за допомогою повторного застосування підпорогових доз конвульсантів, є на сьогодні найбільш адекватним підходом щодо моделювання хронічної епілептизації головного мозку [2, 4]. У хворих на епілепсію присутні розлади циклу неспання- спання, які відображуються в редукції парадоксального сну, його фрагментованості, подовження повільно хвильової фази сну [3], що також має місце у кіндлінгових тварин [2].

Одним із методів припинення хронічної епілепітичної активності, в тому числі і резистентної до дії антиепілептичних препаратів є застосування кетогенної дієти (КД) [6]. Встановлено, що в основі протиепілептичної дії КД знаходиться комплексний вплив, який включає антиоксидантну дію, корекцію нейромедіаторних механізмів контролю збудливості нейрональних утворень мозку за рахунок зниження продукції збуджуючих амінокислот та підвищення ГАМК-ергічного контролю, зниження вивільнення прозапальних цитокинів [1, 6]. Однак, до останнього часу не проводилося досліджень щодо визначення характеристик циклу неспання- спання у тварин з хронічним епілептичним синдромом за умов застосування КД.

Тому метою дійсного дослідження було вивчення показників циклу неспання-спання у щурів з розвиненим кіндлінгом за умов їх різного за тривалістю утримання на КД.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Спостереження виконано за умов гострого експерименту на щурах- самцях лінії Вістар масою 180 - 250 г за стандартних умов утримання віварію ОНМедУ. Досліди проводили згідно вимог GLP та комісії біоетики ОНМедУ (протокол № 84 від 10 жовтня 2008 р.).

Кіндлінг відтворювали шляхом однократних щодобових введень субконвульсивної дози коразолу (30,0 мг/кг, в/очер) на протязі трьох тижнів [2]. В подальших спостереженнях використовували щурів, у яких останні три ін'єкції викликали генералізовані клоніко-тонічні судомні напади. Цим тваринам (25 щурів) через три тижні з моменту відтворення кіндлінгу в/очер застосовували тестуючу дозу коразолу (30,0 мг/кг). Тяжкість судом оцінювали згідно п'яти- бальної шкали [2].

До складу кетогенної дієти входило 80% ліпідів, а також 3,3% вуглеводів та 16,7 % білків [1, 6]. На вказаній

дієті щурів утримували протягом 2 та 4 тижнів починаючи з моменту відтворення моделі кіндлінгових судом і наприкінці кожного терміну застосовували тестуючу дозу коразолу, і через 24 г досліджували цикл неспання - спання. Контрольну групу спостереження склали щури, яким протягом трьох тижнів здійснювали в/очер введення фізіологічного 0,9% розчину NaCL.

Вивчення циклу "неспання-сон" проводилось в один і той же час доби за умов постійного освітлення та температури протягом 4-ох годинного періоду (в астрономічний проміжок з 12.00 до-16.00). Кожна група експериментальних тварин складалася з 8-ми щурів. Запис ЕКоГ оцінювалась кожні 50 с [5]. При обробці отриманої інформації враховували наступні параметри циклу «сон-неспання»: загальний час поведінкового неспання; загальну тривалість сну, абсолютний час тривалості повільнохвильового сну, абсолютний час тривалості парадоксального сну. Запис ЕКоГ проводилась з використанням енцефалографа системи DX-5000 PRACTIC (Харків).

Дві стадії повільнохвильового сну (поверхневий і глибокий) визначались за методом [6]. Стадія поверхневого сну характеризується появою нестабільної порівняно низько-амплітудної активності з окремими тета- і дельта- хвилями, які не перевищують 180 мкВ. Також у цій стадії відмічались окремі веретена альфа-ритмів. Глибокий повільнохвильовий сон характеризується збільшенням кількості і амплітуди тета- і дельта- хвиль до 200 мкВ.

Оцінку результатів досліджень проводили з використанням загальноприйнятих в медико-біологічних дослідженнях статистичних критеріїв- ANOVA+ Newmann- Keuls.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На тлі розвиненого кіндлінгового епілептичного синдрому (24 г з моменту останнього застосування підпорогової дози коразолу) тривалість фази неспання у щурів склала 31,2% від загальної тривалості спостереження (4,0 г), що було достовірно менше (на 7,5%) від загальної тривалості неспання у інтактних щурів ($P<0,05$) (Рис. 1). Тривалість фази поверхневого повільнохвильового сну у кіндлінгових щурів склала 32,2% від загальної тривалості спостереження тварин, що на 12,3% перевищувало відповідний показник у щурів групи контролю (інтактні тварини) ($P<0,05$). Тривалість фази глибокого повільно хвильового сну за умов розвиненого кіндлінгу склала 28,7% від загального періоду спостереження, що було на 2,1% більше, ніж у інтактних тварин ($P>0,05$) (Рис. 1).

На тлі двохтижневого застосування КД тривалість фази неспання склала 33,5% від загального часу спостереження і цей показник не відрізнявся від такого в групі контролю ($P>0,05$) (Рис. 1). В той же час, тривалість фази поверхневого повільно хвильового сну склала 27,0%, що було достовірно більше, ніж у щурів групи контролю (на 7,1%) та менше, ніж у щурів з кіндлінгом (на 5,2%) ($P<0,05$). Тривалість фази глибокого повільнохвильового сну не відрізнялась від такої в інших групах спостереження ($P>0,05$), в той час як тривалість парадоксального сну склала 9,6% і була достовірно меншою від такої в групі контролю ($P<0,05$). На тлі чотирьохтижневого застосування КД тривалість фази неспання кіндлінгових щурів склала 37,5%, що було більше від аналогічного показника в групі кіндлінгових щурів на 6,3% ($P<0,05$). Також достовірно у порівнянні до групи щурів із сформованим кіндлінгом скорочувався період поверхневого повільнохвильового сну (на 8,5%) ($P<0,05$). Всі досліджувані показники не відрізнялись від таких в групі контролю ($P>0,05$).(Рис. 1).

У щурів із розвиненим кіндлінг – синдромом латентний період засинання склав $20,7\pm3,7$ хв, що було на 12,7% менше, ніж в групі інтактних щурів ($P>0,05$) (Рис. 2). Латентний період виникнення парадоксального сну скорочувався на 39,5% (до $28,7\pm3,9$ хв), а число його циклів зростало в 1,9 разу (до $24,3\pm4,1$) ($P<0,05$) (Рис. 2). Латентний період виникнення сну у щурів за умов застосування КД протягом двох тижнів залишався меншим (на 27,6%) у порівнянні до контролю ($P<0,05$) (Рис. 2). Латентний період виникнення парадоксального сну був коротшим, а число циклів більшим у порівнянні до контролю відповідно на 35,3 та на 54,3% ($P<0,05$). На тлі використання КД протягом чотирьох тижнів латентний період виникнення сну був меншим, ніж в контролі на 12,8% ($P>0,05$), в той час як латентний період парадоксальної фази сну залишався меншим в 1,8 разу ($P<0,05$). Число циклів парадоксального сну було вищим від контролю на 18,1% ($P>0,05$) і одночасно меншим, ніж у кіндлінгових щурів без лікування в 1,6 разу ($P<0,05$) (Рис. 2).

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що за умов відтворення у щурів коразолового кіндлінгу спостерігаються виразні порушення структури циклу неспання- спання, які полягають в підвищенні тривалості поверхневого повільнохвильового сну, зменшенні тривалості фази неспання та парадоксального сну. Одночасно реєструється скорочення латентного періоду та збільшення фрагментованості парадоксального сну. Подібні численні та виразні зрушення саме з боку фази парадоксального сну можуть пояснюватися тим, що механізми його виникнення виконують певну антиепілептичну функцію, а також можуть відігравати неспецифічну компенсаторну роль у відношенні до впливу стресорних чинників [1, 4]. Наведені порушення циклу неспання- спання спостерігаються також на моделі електроподразнювального мигдаликового кіндлінгу [4].

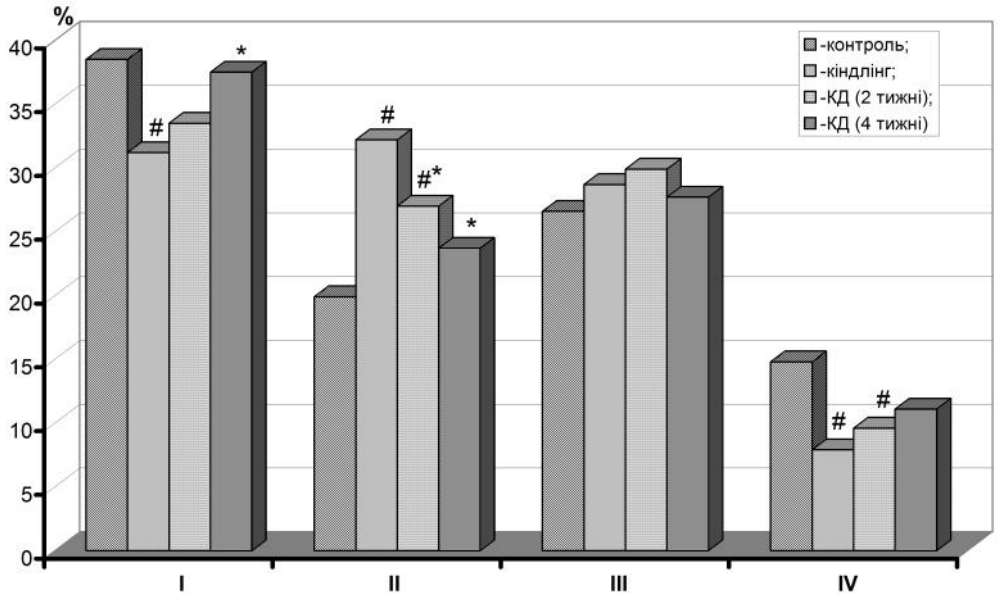

Рис. 1. Тривалість окремих фаз циклу неспання – спання за умов застосування кетогенної дієти у кіндлінгових щурів.

Позначки: по вісі абсцис – I- неспання; II- поверхневий повільно хвильовий сон; III- глибокий повільнохвильовий сон; IV- парадоксальний сон. По вісі ординат- досліджувані показники в % у порівнянні до загальної тривалості спостереження (100%), #-P<0,05 у порівнянні до тварин групи контролю та *- P<0,05 у порівнянні до кіндлінгових тварин.

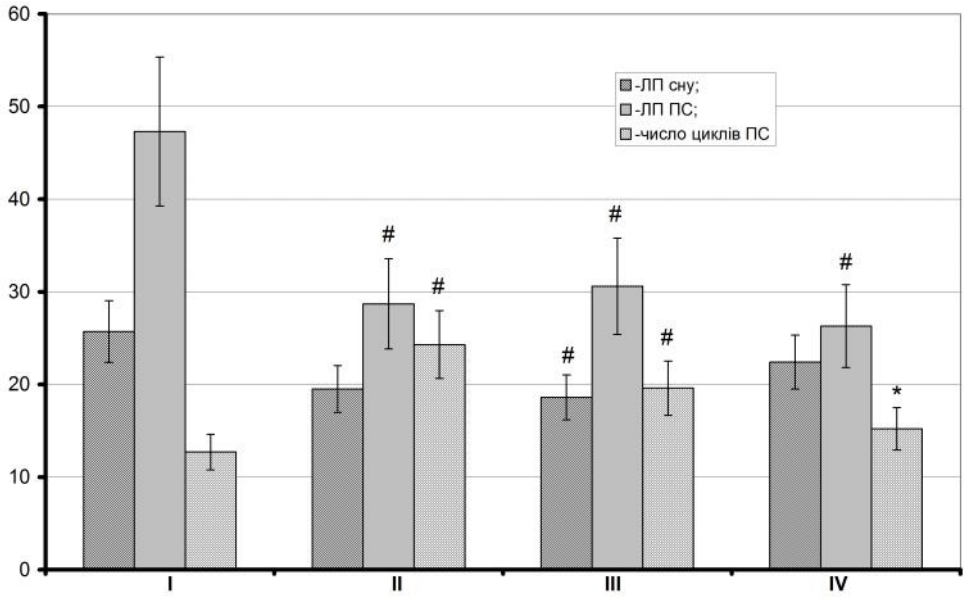

Рис. 2. Характеристики латентностей сну, а також число циклів ПС за умов застосування кетогенної дієти у кіндлінгових щурів.

Позначки: по вісі абсцис: I- інтактні щури (контроль); II- кіндлінгові щури; III- застосування КД протягом 2 тижнів; IV- застосування КД протягом 4 тижнів. По вісі ординат – досліджувані показники, ЛП- латентний період, ПС – парадоксальний сон, #-P<0,05 у порівнянні до тварин групи контролю та *- P<0,05 у порівнянні до кіндлінгових тварин.

Разом з тим, отримані результати засвідчили, що утримання кіндлінгових щурів на КД сприяє відновленню кіндлінг- провокованих порушень з боку циклу неспання – спання. Подібні корегуючи впливи КД можливо пояснити зокрема тим, що під її впливом зменшується вивільнення ендогенних прозапальних цитокинів [1, 6], одним з центральних ефектів яких є стимуляція механізмів повільно хвильового сну,

порушення фази парадоксального сну [7]. Також слід зауважити, що можливим механізмом збільшення тривалості парадоксального сну під впливом КД у кіндлінгових щурів може проходити за рахунок активації холінергічних механізмів мозку яка здатна викликати парадоксальної фази сну [2].

ВИСНОВКИ

1. За умов розвиненого кіндлінгу відбуваються зменшення тривалості фази неспання, парадоксального сну з одночасним збільшенням тривалості поверхневого повільнохвильового сну. Крім того, спостерігаються скорочення латентного періоду та збільшення фрагментованості фази парадоксального сну.

2. Утримання щурів на КД кіндлінгових щурів відновлює тривалість фаз циклу неспання - спання та усуває фрагментованість парадоксального сну.

3. Вплив КД на кіндлінг- провоковані порушення циклу неспання- спання спостерігаються залежно від тривалості утримання щурів на дієті і є більш виразними при 4-тижневому її застосуванні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Годлевський Л.С., Полясний В.О., Антонян І.С. Протекторний ефект кетогенної дієти та пентоксифіліну у відношенні до викликаних хронічним стресом порушень з боку збудливості мозку та шлунково-кишкового тракту// Одеський медичний журнал.- 2-12.- №1(129).- С. 9-12.

2. Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома/ Л.С.Годлевский, Е.В.Коболев, В.Ф.Мустяца, Г.А. Дроздова // КП ОГТ, Одесса.- 2010.- 350 с.

3. Ketogenic diet: effects on normal human cortex/ R.Cantello, C.Varrasi, M.Cecchin et al. // Epilepsia.- 2007 – Vol.48, N9. – P.1756-63

4. Loscher W. Animal models of drug resistant epilepsy/ W. Loscher // In: Ling V, ed. Mechanisms of drug resistance in epilepsy: lessons from oncology. Chichester: Wiley, 2002.- P.149-158.

5.The analysis of delta sleep-inducing neuropeptide action in cats and albino rats/ Karmanova I.G., Maximuk I.P., Voronov I.B. et al. // Evolut. Biochem. Physiol. - 1979. - Vol.15, - P. 583-589.

6. The ketogenic diet: from molecular mechanisms to clinical effects/ Freeman J, Veggiotti P, Lanzi G et al. / / Epilepsy Res.- 2006.- Vol.68.- P.145–180.

7. Vezzani A. Brain inflammation in epilepsy: experimen-tal and clinical evidence/ A.Vezzani, T.Granata // Epilepsia.- 2005.- Vol.46.- P.1—20.