

# Ефекти слабого постійного електричного струму на нейритогенез у модельних експериментах *in vitro*

К.В. Яценко<sup>1,2</sup>, І.В. Лушнікова<sup>1</sup>, Г.Г. Скибо<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;

<sup>2</sup>«Неврологічна клініка доктора Яценко», Київ;

e-mail: ivlook@ukr.net

*У роботі досліджено вплив стимуляції нервових клітин слабким постійним струмом (ПС) в експериментах in vitro з використанням коротко- і довгострокових культур дисоційованих клітин гіпокампа. Вплив здійснювали одноразово протягом 4 год за допомогою металевих електродів та приладу для генерації ПС. Оцінювали структурні зміни при дії слабого ПС (0,25 мА) за нормальних умов культивування або при моделюванні запального процесу за допомогою ліпополісахариду. Аналізували площу нейритів та синаптоподібних структур, а також кількість гліальних клітин. Виявлено, що стимуляція слабким ПС суттєво прискорювала формування нейритів у початковий період культивування гіпокампальних клітин. Протягом 2-5-ї доби після впливу площа нейритів була більшою у середньому на  $21,4 \pm 1,2$  % відносно контролю та на  $25,3 \pm 1,2$  % щодо дії ліпополісахариду. При використанні довгострокових культур (10-12-денних), де структура нейритів мала вигляд добре розвинених мереж, ефекти ПС спостерігалися тільки за умов впливу ліпополісахариду і проявлялися у зменшенні дезорганізації нейритів та збільшенні площі синапсів у середньому на  $21,2 \pm 1,1$  %. Крім того, кількість гліальних клітин була менше на  $15,6 \pm 0,9$  %. Таким чином, нейропротекторні ефекти слабого ПС можуть бути пов'язані з безпосереднім впливом на нейритогенез і відновленням нервової тканини.*

*Ключові слова: стимуляція слабким постійним електричним струмом; мікрополяризація; культура гіпокампальних клітин; нейритогенез; ліпополісахарид.*

## ВСТУП

Вплив на структури ЦНС слабким (до 1 мА) постійним струмом (ПС) успішно застосовується у неврологічній практиці як неінвазивний електротерапевтичний метод (інша його назва - «мікрополяризація») при лікуванні таких неврологічних захворювань, як інсульт, епілепсія, хвороби Альцгеймера і Паркінсона, енцефаліти різної етіології, перинатальна енцефалопатія тощо [3, 5-8]. Слабкий ПС підвищує ефективність когнітивних функцій, зокрема пам'яті [1-4]. Транскраніальна та трансвертебральна «мікрополяризація» виявляє протекторний ефект при використанні у гострий період уражень ЦНС та у разі віддалених наслідків при патологічних станах різного генезу [9, 10]. Спрямований на зони ушкодження вплив слабого

© К.В. Яценко, І.В. Лушнікова, Г.Г. Скибо

ПС сприяє підтримці клітинного і тканинного гомеостазу [6, 11-13]. Незважаючи на широке використання цього методу та численні експериментальні дослідження *in vivo* і *in vitro* [14], багато питань щодо механізмів, які лежать в основі протекторних ефектів слабого ПС, не з'ясовані остаточно. Маловивченими є питання щодо безпосереднього впливу ПС на морфофункціональні властивості нервових клітин, зокрема на нейритогенез за нормальних і патологічних умов.

В основі дії ПС знаходяться зміни рівня поляризації клітинної мембрани під впливом струму малої інтенсивності, що стабілізує функціонування клітин та нейронних мереж у міжелектродному просторі [12, 13]. Дослідження безпосередньої дії ПС на нервові клітини та нейритогенез становить інтерес для обґрунтування її позитивних ефектів у

терапії захворювань ЦНС. Для з'ясування цих питань ми використали експериментальну модель, зокрема, культуру дисоційованих клітини гіпокампа та спеціальний пристрій для створення умов проходження слабкого електричного струму через моношар нервових клітин. У разі довготривалого культивування (протягом 2 тиж) гіпокампальні клітини здатні відновлюватися та формувати нейронні мережі, зберігаючи специфічну структуру і життєздатність [15]. Використання технології культивування дає можливість підведення електродів та пропускання слабкого ПС у зоні розташування моношару нервових клітин для дослідження його ефектів на клітинному рівні. Патологічні умови *in vitro* створювали за допомогою додавання у середовище культивування бактеріального ендотоксину ліпополісахариду, основного чинника нейрозапалення, що нерідко супроводжує захворювання мозку та використовується у модельних експериментах [16-19].

Метою нашої роботи було дослідження безпосереднього впливу слабкого ПС на структурні показники нервових клітин гіпокампа щурів за умов їх нормального культивування або за наявності у культуральному середовищі ліпополісахариду.

## МЕТОДИКА

Експерименти виконані з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006), а також усіх норм біоетики.

Дисоційовану культуру нейронів гіпокампа отримували з новонароджених щурів [20]. Тканину гіпокампа подрібнювали, трипсинізували (10 хв), ресуспендували пастеровською піпеткою та відокремлювали від зруйнованих клітин за допомогою центрифугування (200 g) у розчині Кребса з 20

ммоль Нерес та 0,3 % бичачого сироваткового альбуміну (BSA). Клітини наносили на оброблені полі-L-лізином скельця круглої форми (15000 клітин/см<sup>2</sup>) та культивували при 37°C в атмосфері повітря з 5 % CO<sub>2</sub>. Середовище культивування містило: Neurobasal A («Gibco», США), 2 % B27 («Gibco», США), 0,4 % BSA («Sigma», США), 15 ммоль/л HEPES («Gibco», США), 0,5 ммоль/л Glumax («Gibco», США), 100/100 од. пеніцилін/стрептоміцин («Sigma», США). Середовище культивування змінювали на 2-й день інкубації та далі двічі на тиждень. Протягом 12 днів нейрони в культурі стабілізувалися, сягаючи зрілого стану, та утворювали мережі.

Морфометричний аналіз площі відростків нейронів проводили у 2 окремих серіях експериментів: 1-ша - короткострокова культура - період початкового формування нейритів; 2-га - довгострокова культура - період добре розвинених відростків. У кожній серії паралельно вивчали структурні зміни у необроблених культурах (контроль) або при дії ПС, ліпополісахариду та сумісному впливі ліпополісахариду і ПС. Прижиттєву оцінку нейритогенезу проводили щоденно протягом 2-5 діб (1-ша серія) або 10-12 діб (2-га серія), використовуючи фазово-контрастний об'єктив та світлооптичний інвертований мікроскоп з відеокамерою («Zeiss», Німеччина). Площу синаптоподібних структур та кількість гліальних клітин оцінювали тільки у довгостроковій культурі на 12-ту добу культивування після фіксації 4%-м розчином параформальдегіду на фосфатному буфері (0,1 моль/л) протягом 24 год.

Для вивчення впливу слабкого ПС на клітинні культури використовували металеві електроди та пристрій на базі сертифікованого приладу «Реамед-Полярис» (Росія) для генерації струму [11]. Електроди занурювали у культуральне середовище з протилежних боків скла, на поверхні яких були розташовані культивовані гіпокампальні клітини. Вплив ПС здійснювали одноразово на 2-гу або 10-ту добу для 1-ї і 2-ї серії експериментів

відповідно. Використовували режим слабкого постійного струму силою у 0,25 мА протягом 4 год, висока ефективність якого щодо впливу на культури гіпокампа була встановлена нами у попередніх дослідженнях [21]. Ліпополісахарид (L4130, «Sigma-Aldrich», США) у концентрації 10 мкг/мл, яка була підібрана емпірично у попередніх дослідженнях [21], вносили у культуральне середовище одно-разово за 24 год до впливу ПС на 1-шу або 9-ту добу для 1-ї і 2-ї серії експериментів відповідно.

Зображення культур аналізували за допомогою комп'ютерної програми Image J (National Institutes of Health, США). Результати виражені: у разі нейритогенезу - як площа нейритів у 1 мкм<sup>2</sup>; синаптоподібних структур - як площа об'єктів у 1 мкм<sup>2</sup>; глії - як кількість клітин у 1 мкм<sup>2</sup>. Вибірка результатів отримана з 4 експериментів та включає аналіз щонайменш 4 окремих культур у кожному варіанті впливів. Зроблені 40 фото полів зору мікроскопа в кожній групі для аналізу нейритів і гліальних клітин (n=40) при збільшенні у 100 разів, та 50 - для синаптоподібних структур (n=50) при збільшенні у 200 разів. Всього було використано 32 окремі гіпокампальні культури, отримані з 12 щурів, проаналізовано 320 фото. Результати наведено у вигляді середнього арифметичного у кожній експериментальній групі ± стандартна похибка середнього (SEM).

Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення "GraphPad Prism 5.01" (США). Результати характеризувалися нормальним розподілом, статистична вірогідність різниць визначалась з використанням Tukey-тесту (ANOVA), відмінності вважалися достовірними при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Використана модельна система дає можливість спостерігати за формуванням нейритів після дисоціації гіпокампальних клітин та оцінити безпосередній вплив слабкого

ПС на цей процес. Було виявлено, що у ранні терміни культивування дисоційованих гіпокампальних клітин (2–5-та доба), коли починається формування новоутворених нейритів, слабкий ПС (0,25 мА одноразово на 2-гу добу протягом 4 год) суттєво підвищував ефективність цього процесу. На рис. 1 представлені фото, що ілюструють динаміку утворення відростків у цей період за нормальних умов в культурі та після впливу ПС.

Нейрозапальний процес моделювали, використовуючи ендотоксин ліпополісахарид, який додавали у культуральне середовище за 24 год до впливу ПС. На рис. 1 представлено графік, що ілюструє результати кількісної оцінки динаміки нейритогенезу у короткостроковій культурі гіпокампальних клітин. Виявлено, що наявність ліпополісахариду у культуральному середовищі суттєво уповільнювала нейритогенез, зокрема у середньому протягом 2-5-ї доби на  $26,4 \pm 1,7 \%$  ( $P < 0,05$ ). ПС прискорював утворення відростків у цей період як за нормальних умов культивування (на  $21,4 \pm 1,2 \%$  відносно контролю,  $P < 0,05$ ), так і на фоні дії ліпополісахариду (на  $25,3 \pm 1,2 \%$ ,  $P < 0,05$ ). Найбільш виражені ефекти спостерігалися на 4 добу проведення експерименту (див. рис.1, в).

Аналогічні дослідження були проведені на довгостроковій (10-12 діб) гіпокампальній культурі, в якій відростки були добре розвинені та мали виражені контури (рис. 2). Соми нейронів та мережі їх відростків були об'ємними, добре заломлювали світло і у полі зору фазово-контрасного мікроскопа візуалізувалися як яскраво-виражені об'єкти (див. рис. 2, а, чорна стрілка). У культурі також були наявні гліальні клітини, які на відміну від нейронів мали сплюснену форму, слабо заломлювали світло та візуалізувалися як темні і розпластані (див. рис. 2, а, біла стрілка). За цими морфологічними ознаками відрізняли нейрони і гліальні клітини. Прижиттєві спостереження і подальший морфометричний аналіз показав, що на 12-

ту добу контрольні культури мають ознаки стабільності та стійкості, що стосується кількості клітин та розвиненості нейритів (див. рис. 2, а). У цей термін не виявлено суттєвих відмінностей у нейритогенезі при дії ПС (0,25 мА одноразово на 10-ту добу протягом 4 год) відносно контролю (див. рис. 2, б). Дія ліпополісахариду певною мірою

знижувала площу нейритів та призводила до виникнення нерівномірності у розташуванні відростків (див. рис. 2, в). Вплив ПС за наявності ліпополісахариду мав тенденції до відновлення стану нейритів (див. рис. 2, г). Кількісний аналіз площі нейритів підтвердив зазначені вище візуальні спостереження. Ефекти ліпополісахариду вірогідно відрізі-

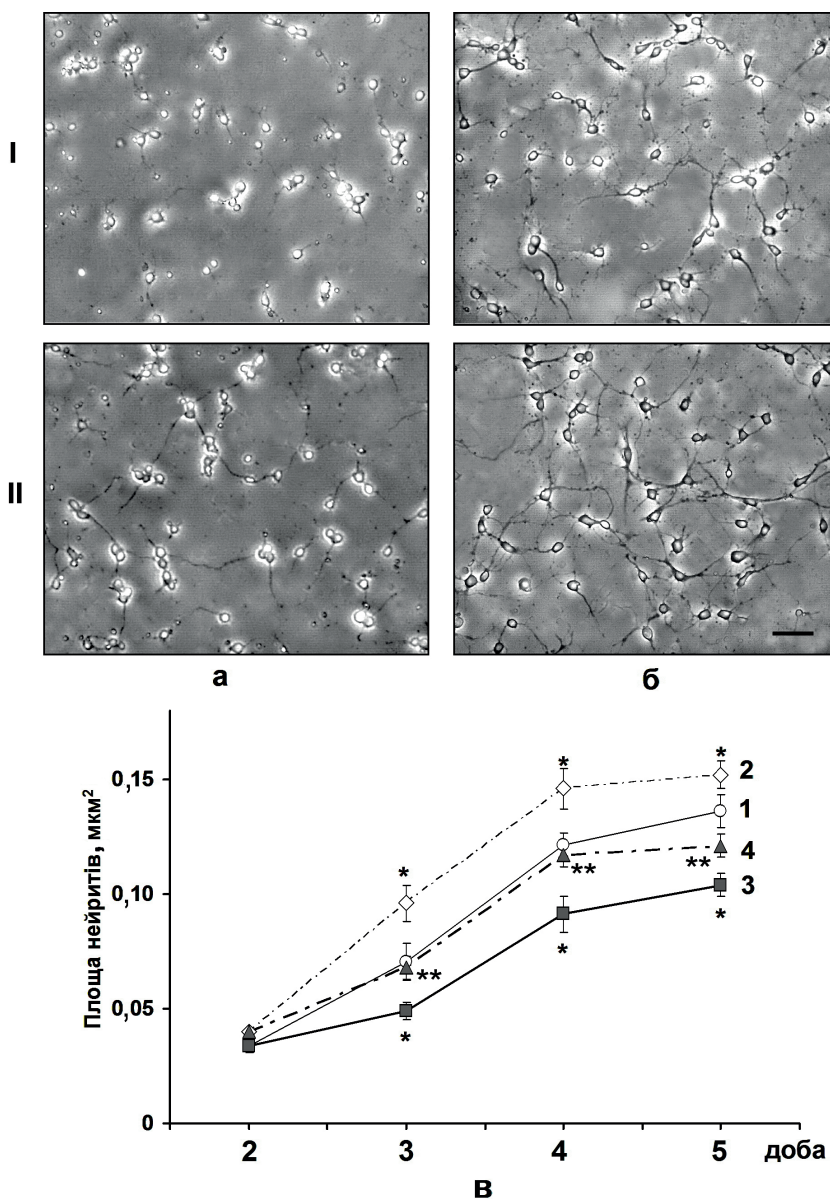


Рис. 1. Морфологічний аналіз ефективності формування нейритів у короткостроковій культурі дисоційованих гіпокампальних клітинах: ілюстрація змін нейритогенезу на 2-гу (а) і 5-ту (б) добу за нормальних умов (І) та після дії слабого постійного струму (ПС; ІІ). Масштаб - 100 мкм; в - графічне зображення динаміки нейритогенезу: 1 - контроль, 2 - ПС, 3 - ліпополісахарид, 4 - сумісний вплив. \*  $P < 0,05$  щодо контролю, \*\*  $P < 0,05$  щодо дії ліпополісахариду



нялися від контролю на 11-ту і 12-ту добу (див. рис. 2, д). У середньому протягом 10-12-ї доби площа нейритів зменшувалася на  $15,5 \pm 0,6$  % відносно контролю ( $P < 0,05$ ). Значущих відмінностей при дії ПС не виявлено, але хотілося б відмітити цікаві особливості структури нейромереж 12-добової

гіпокампальної культури у варіанті сумісного впливу ліпополісахариду і ПС (див. рис. 2, г). Візуалізація просторового розподілу нейритів у цих умовах виявила ділянки односпрямованого розташування нейронних відростків, яке було, вочевидь, не випадковим. Імовірно, слабкий ПС спрямовує спонтанну

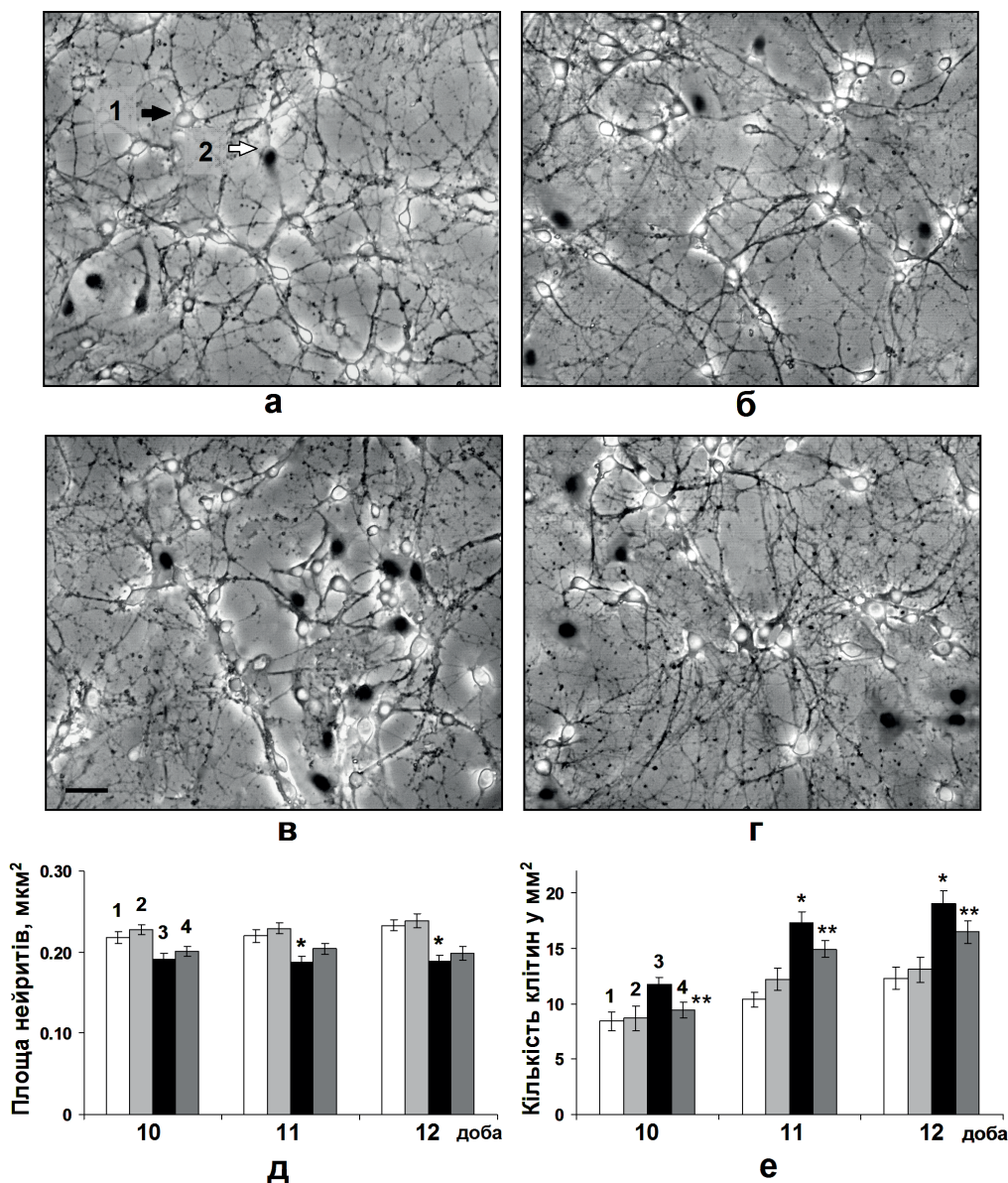


Рис. 2. Морфологічний аналіз стану нейритів та гліальних клітин у довгостроковій (10-12 діб) культурі. Ілюстрація змін нейритогенезу на 12-ту добу культивування за нормальних умов (а) та при дії слабого постійного струму (ПС; б) і ліпополісахариду окремо (в) і сумісно (г). На а відмічено соми нейрона (1 - чорна стрілка) та гліальної клітини (2 - біла стрілка). Масштаб - 100 мкм. На д - діаграма змін площі нейритів, на е - зміни кількості гліальних клітин: 1 - контроль, 2 - ПС, 3 - ліпополісахарид, 4 - сумісний вплив. \*  $P < 0,05$  щодо контролю, \*\*  $P < 0,05$  щодо дії ліпополісахариду

клітинну рухомість у культурі, зокрема у разі розрідженості мережі нейритів після дії ліпополісахариду за наших експериментальних умов.

У довгостроковій культурі гліальні клітини досить чітко відрізнялися від нейронів, що дало можливість проаналізувати їх стан у наших експериментальних умовах, зокрема

оцінити зміни їх кількості. Показано, що дія ліпополісахариду викликає активацію цих клітин, що виражається у певному збільшенні їх числа (див. рис. 2, е). У середньому протягом 10-12 доби кількість глії збільшувалася на  $42,4 \pm 2,5$  % відносно контролю ( $P < 0,05$ ). Слабкий ПС у нормі не впливав на цей показник, але при дії ліпополісахариду

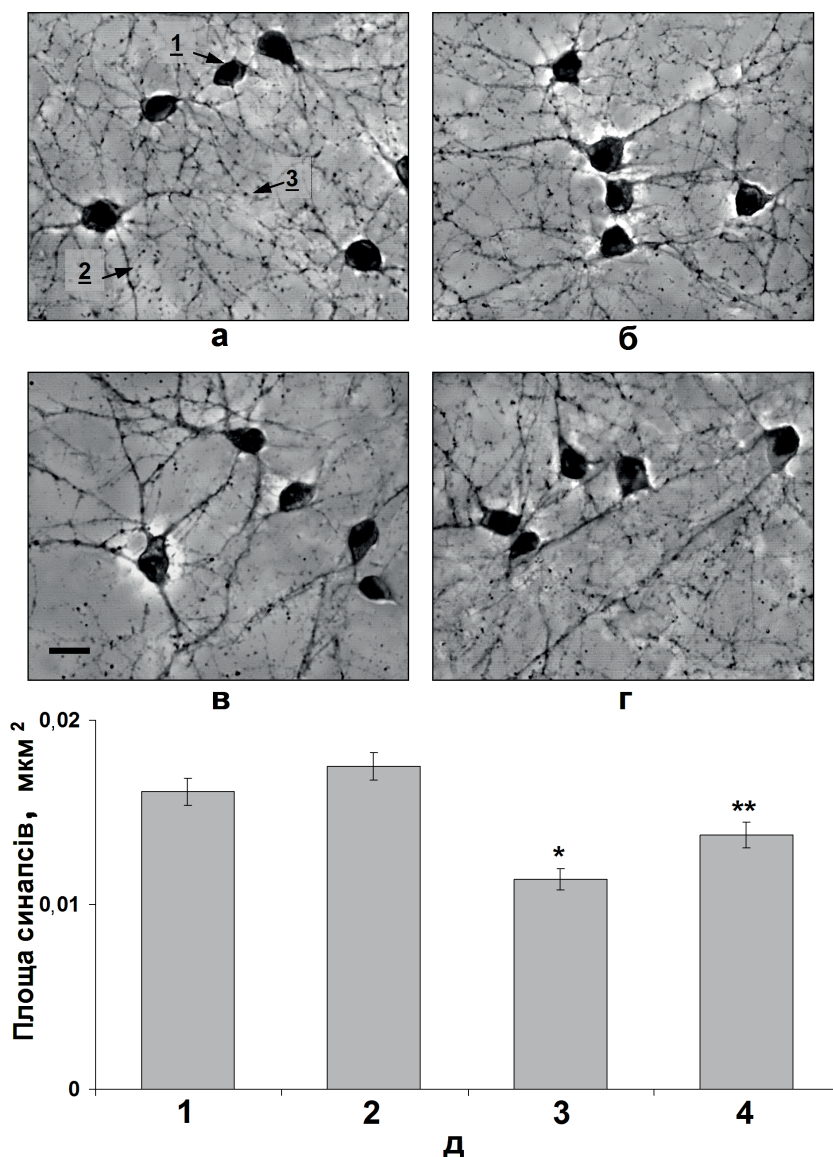


Рис. 3. Морфологічний аналіз синаптоподібних структур у довгостроковій (12 діб) культурі дисоційованих гіпокампальних клітин: а - за нормальних умов, б - при дії слабого постійного струму (ПС), в - ліпополісахариду окремо, г - сумісно. На а відмічено сому нейрона (1), нейрит (2) та синаптоподібну структуру (3). Масштаб - 50  $\mu\text{m}$ . На д - гістограма змін площі синапсів: 1 - контроль, 2 - ПС, 3 - ліпополісахарид, 4 - сумісний вплив. \*  $P < 0,05$  щодо контролю, \*\*  $P < 0,05$  щодо дії ліпополісахариду

здебільшого стабілізував стан гліальних клітин. Їх кількість зменшувалася на  $15,6 \pm 0,9$  % відносно дії ліпополісахариду ( $P < 0,05$ ). Ці результати підтверджують нейропротекторні властивості слабого ПС.

Відомо, що при тривалому культивуванні нейрити відновлюються, крім того, формуються новоутворені синаптичні контакти. У попередніх наших дослідженнях з використанням конфокальної мікроскопії було оцінено особливості морфофункціональних змін синапсів при аналогічних до наших умов культивуванні [22]. У цій роботі, використання фазово-контрастного мікроскопа при збільшенні у 200 разів уможливило, з певною ймовірністю, оцінку синаптоподібних структур, які візуалізувалися як чітко виражені темні точки на фоні виражених нейритів та видимих перетинів відростків (рис. 3, а-г). Виявлено, що дія ліпополісахариду зменшувала щільність як нейритів, так і синапсів (див. рис. 3, д). Площа синапсів на 12-ту добу була на  $29,4 \pm 1,5$  % меншою відносно контролю ( $P < 0,05$ ). Вплив слабого ПС значною мірою сприяв стабілізації їх стану. Щільність синаптоподібних структур була на  $21,2 \pm 1,1$  % більшою порівняно з дією ліпополісахариду ( $P < 0,05$ ). За нормальних умов ПС суттєво не впливав на ці структури.

Таким чином, використана модель короткострокової культури дисоційованих гіпокампальних клітин виявила здатність ПС безпосередньо впливати на нейритогенез та стабілізувати стан нервових клітин. У початковий період культивування слабкий ПС значно збільшував щільність нервових відростків у нормі та за наявності фактора запалення ліпополісахариду. В умовах довгострокової культури, коли нейромережі добре розвинені, вплив ПС на нейритогенез менш виражений, але її стабілізуючий ефект виявлявся у разі дії ліпополісахариду.

Отримані результати розширюють уявлення про механізми нейропротекторної дії слабого ПС. Активация нейритогенезу може підвищити здатність нервових клітин до

відновлення при дії негативних факторів, зокрема, факторів запалення. Усе це вказує на широкі перспективи застосування слабого ПС як ефективного терапевтичного засобу при мозкових захворюваннях.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

**К.В. Яценко, І.В. Лушнікова, Г.Г. Скибо**

### **ЭФФЕКТЫ СЛАБОГО ПОСТОЯННОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА НА НЕЙРИТОГЕНЕЗ В МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO***

В работе исследовано влияние стимуляции нервных клеток слабым постоянным током (ПТ) в экспериментах *in vitro* с использованием кратко- и долгосрочных культур диссоциированных клеток гиппокампа. Влияние осуществляли однократно в течение 4 ч с помощью металлических электродов и прибора для генерации ПТ. Оценивали структурные изменения при действии слабого ПТ (0,25 мА) в нормальных условиях культивирования или при моделировании воспалительного процесса с помощью липополисахарида. Анализировали площадь нейритов и синаптоподобных структур, а также количество глиальных клеток. Выведено, что стимуляция слабым ПТ существенно ускоряла формирование нейритов в начальный период культивирования гиппокампальных клеток. В течение 2-5 сут после воздействия площадь нейритов была больше в среднем на  $21,4 \pm 1,2$  % относительно контроля и на  $25,3 \pm 1,2$  % от действия липополисахарида. При использовании долгосрочных культур (10-12-дневных), где структура нейритов имела вид хорошо развитых сетей, эффекты ПТ наблюдались только на фоне влияния липополисахарида и выражались в уменьшении дезорганизации нейритов и в увеличении площади синапсов в среднем на  $21,2 \pm 1,1$  %. Кроме того, количество глиальных клеток было меньше на  $15,6 \pm 0,9$  %. Таким образом, нейропротекторные эффекты ПТ могут быть связаны с непосредственным влиянием на нейритогенез и восстановлением нервной ткани.

Ключевые слова: стимуляция слабым постоянным электрическим током; микрополяризация; культура гиппокампальных клеток; нейритогенез; липополисахарид.



K.V.Yatsenko<sup>1,2</sup>, I.V.Lushnikova<sup>1</sup>, G.G.Skibo<sup>1</sup>

## EFFECTS OF WEAK DIRECT CURRENT ON NEURITOGENESIS IN VITRO

In this work, the effects of weak direct current (DC) stimulation of nerve cells were studied in an *in vitro* model using short- and long-term of dissociated hippocampal cultures. The exposure was performed once for 4 hours using metal electrodes and a device for generating DC. The effects of weak DC (0,25 mA) on structural changes in cultures were assessed both in normal conditions and in modeling the inflammatory process using lipopolysaccharide. The area of neurites and synapse-like structures as well as the number of glial cells were analyzed. It was revealed that DC stimulation significantly speed up the formation of neurites in the early period of the cultivation of hippocampal cells. The area of neurites on average was  $21,4 \pm 1,2\%$  more compared to control and  $25,3 \pm 1,2\%$  relatively lipopolysaccharide for 2-5 days after DC. In long-term cultures (10-12 days old), where the structure of neurites had the appearance of well-developed networks, the effects of DC were observed only with lipopolysaccharide. There was a decrease in the disorganization of neurites and an increase in the area of synapses by an average of  $21,2 \pm 1,1\%$ . In addition, the number of glial cells was less by  $15,6 \pm 0,9\%$ . Thus, the neuroprotective effects of DC can be associated with a direct effect on neuritogenesis and regeneration of nervous tissue. Key words: direct current stimulation; micropolarization; hippocampal cell culture; neuritogenesis; lipopolysaccharide.

1Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv;

2Neurological clinic of Dr. Yatsenko, Kyiv;

e-mail: ivlook@ukr.net

## REFERENCES

- Leffa DT, Bellaver B, Salvi AA, de Oliveira C, Caumo W, Grevet EH, Fregni F, Quincozes-Santos A, Rohde LA, Torres ILS. Transcranial direct current stimulation improves long-term memory deficits in an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder and modulates oxidative and inflammatory parameters. *Brain Stimul.* 2018; 11(4): 743-51.
- Richmond L, Wolk D, Chein J, Olson I. Transcranial direct current stimulation enhances verbal working memory training performance over time and near-transfer outcomes. *J Cogn Neurosci.* 2014; 26(11): 2443-54.
- Spezia Adachi LN, Caumo W, Laste G, Fernandes Medeiros L, Ripoll Rozisky J, de Souza A, Fregni F, Torres IL. Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. *Brain Res.* 2012; 1489: 17-26.
- Yavari F, Jamil A, Mosayebi Samani M, Vidor LP, Nitsche MA. Basic and functional effects of transcranial electrical stimulation (tES)-An introduction. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018; 85: 81-92.
- Elsner B, Kugler J, Pohl M, Mehrholz J. Transcranial direct current stimulation (tDCS) for idiopathic Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; 7: CD010916.
- Grimaldi G, Argyropoulos GP, Bastian A, Cortes M, Davis NJ, Edwards DJ, Ferrucci R, Fregni F, Galea JM, Hamada M, Manto M, Miall RC, Morales-Quezada L, Pope PA, Priori A, Rothwell J, Tomlinson SP, Celnik P. Cerebellar transcranial direct current stimulation (ctDCS): a novel approach to understanding cerebellar function in health and disease. *Neuroscientist.* 2016; 22(1): 83-97.
- Jones KT, Stephens JA, Alam M, Bikson M, Berryhill ME. Longitudinal neurostimulation in older adults improves working memory. *PLoS One.* 2015; 10(4): 0121904.
- Hordacre B, Moezzi B, Ridding MC. Neuroplasticity and network connectivity of the motor cortex following stroke: A transcranial direct current stimulation study. *Hum Brain Mapp.* 2018; 39(8): 3326-3339.
- Martin DM, Moffa A, Nikolin S, Bennabi D, Brunoni AR, Flannery W, Haffen E, McClintock SM, Moreno ML, Padberg F, Palm U, Loo CK. Cognitive effects of transcranial direct current stimulation treatment in patients with major depressive disorder: An individual patient data meta-analysis of randomised, sham-controlled trials. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018; 90: 137-145.
- Parkin BL, Bhandari M, Glen JC, Walsh V. The physiological effects of transcranial electrical stimulation do not apply to parameters commonly used in studies of cognitive neuromodulation. *Neuropsychologia.* 2018; S0028-3932(18): 30123-4.
- Shelyakin AM, Ponomarenko GN. Micropolarization of the brain. Theoretical and practical aspects. St.Petersburg: IPC Baltic, 2006. [Russian].
- Pelletier SJ, Lagacé M, St-Amour I, Arsenault D, Cisbani G, Chabrat A, Fecteau S, Lévesque M, Cicchetti F. The morphological and molecular changes of brain cells exposed to direct current electric field stimulation. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2014; 18(5): 1-13.
- Pelletier SJ, Cicchetti F. Cellular and molecular mechanisms of action of transcranial direct current stimulation: evidence from in vitro and in vivo models. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2015; 18(2): 1-16.
- Liu A, Vöröslakos M, Kronberg G, Henin S, Krause MR, Huang Y, Opitz A, Mehta A, Pack CC, Krekelberg B, Berényi A, Parra LC, Melloni L, Devinsky O, Buzsáki G. Immediate neurophysiological effects of transcranial electrical stimulation. *Nat Commun.* 2018; 9(1), 1-12.
- Lushnikova IV, Voronin K, Malyarevskyy PY, Smozhanyk KG, Skibo GG. Effects of oxygen-glucose deprivation of different duration on hippocampal slice cultures. *Fiziol Zh.* 2004; 50(2), 105-11. [Ukrainian].
- Lushnikova IV. Functional activity of hippocampal neurons after short-term oxygen-glucose deprivation in vitro. *Fiziol Zh.* 2008; 54(6), 58-65. [Ukrainian].
- Catorce MN, Gevorkian G. LPS-induced murine neuroinflammation model: main features and suitability for pre-clinical assessment of nutraceuticals. *Curr Neuropharmacol.* 2016; 14(2): 155-64.
- Lee JW, Lee YK, Yuk DY, Choi DY, Ban SB, Oh KW, Hong JT. Neuro-inflammation induced by lipopolysaccharide



- causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation. J Neuroinflammation. 2008; 29(5): 37.
19. Nair S, Sobotka KS, Joshi P, Gressens P, Fleiss B, Thornton C, Mallard C, Hagberg H. Lipopolysaccharide-induced alteration of mitochondrial morphology induces a metabolic shift in microglia modulating the inflammatory response in vitro and in vivo. Glia. 2019, 67(6), 1047-61.
20. Maar T, Rønn L, Bock E, Berezin V, Moran J, Pasantes-Morales H, Schousboe A. Characterization of microwell cultures of dissociated brain tissue for studies of cell-cell interaction. J Neurosci Res. 1997; 47(2): 163-72.
21. Yatsenko KV, Lushnikova IV, Skibo GG. Investigation of the micropolarization on neuronal cells in the modeling of the inflammatory process in vitro. Ukr Neurol J. 2018; 2(47): 69-73. [Ukrainian].
22. Skibo GG, Lushnikova IV, Voronin KY, Dmitrieva O, Novikova T, Klementiev B, Vaudano E, Berezin VA, Bock E. A synthetic NCAM-derived peptide, FGL, protects hippocampal neurons from ischemic insult both in vitro and in vivo. Eur J Neurosci. 2005; 22(7): 1589-96.

*Матеріал надійшов  
до редакції 09.10.2018*