

Особливості організації циклу неспання–сон за умов моделювання хвороби Альцгеймера у щурів

В.В. Гейко, О.Г. Берченко, Н.О. Левічева, В.В. Соколік

ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», Харків;
e-mail: nbi.inpn@ukr.net

Досліджували особливості структурно-функціональної організації сну в динаміці розвитку нейродегенеративної патології у щурів за умов моделювання хвороби Альцгеймера для вивчення нейрофізіологічних механізмів її ранніх проявів. Показано, що формування хвороби Альцгеймера характеризувалося критичним зниженням представленості фази парадоксального сну у поєднанні з пролонгуванням латентного періоду і скороченням тривалості його першого епізоду; суттєвим зменшенням стадії глибокого повільно-хвильового сну; превалюванням незавершених (неповних) циклів неспання–сон. На підставі виникнення та наступної стабілізації цих порушень у процесі хронізації експериментальної нейродегенеративної патології зроблено висновок про перспективність використання отриманих показників як ранніх проявів (предикторів) хвороби Альцгеймера для ідентифікації прогностичних критеріїв її перебігу і розробки підходів щодо корекції.

Ключові слова: цикл неспання–сон; фази сну; β -амілоїдний пептид; модель хвороби Альцгеймера.

ВСТУП

Хвороба Альцгеймера (ХА) є однією з найпоширеніших причин тяжких когнітивних порушень та деменції в осіб похилого віку. У зв'язку з цим проблеми її патогенезу, терапії та можливостей профілактики нині набувають високої медико-соціальної значущості. Порушення сну відносяться до найбільш частих і ранніх симптомів ХА, що з'являються задовго до діагностики когнітивного зниження [1–4] і суттєво погіршують якість життя [5, 6]. Близько 15% випадків ХА можуть бути пов'язані з розладами сну [6–8]. Їх розглядають як предиктори нейродегенеративної патології, що розвивається внаслідок агрегації β -амілоїдних пептидів ($A\beta_{40/42}$), котрі вважаються біологічними маркерами її розвитку та тісно пов'язані з циклом неспання–сон [9–11]. Порушення організації сну у вигляді скорочення представленості його повільно-хвильової фази сприяє утилізації та накопиченню $A\beta_{40}$ [12, 13]. Сон має важливе значення в консолідації

довготривалої пам'яті, а його дисфункції у вигляді частих пробуджень, надмірної денної сонливості та дрімоти [3] також є ранніми предикторами її порушень. У зв'язку з тим, що прогресуванню ХА не вдається запобігати фармакологічними засобами терапії, є актуальною розробка адекватних підходів, які сприяють подальшим дослідженням та впровадженню способів впливу на ранні та доклінічні стадії її патогенезу.

Метою нашої роботи було вивчення нейрофізіологічних механізмів структурно-функціональної організації циклу неспання–сон у динаміці розвитку нейродегенеративної патології за умов моделювання ХА.

МЕТОДИКА

Фізіологічний цикл неспання–сон досліджували за умов хронічного експерименту з використанням 16 нелінійних білих лабораторних щурів-самців пізнього зрілого віку (від 15 до 16 міс) і 10 самців репродуктивного віку (від 5 до 6 міс) [14]. Всі дослідні тварини

© В.В. Гейко, О.Г. Берченко, Н.О. Левічева, В.В. Соколік

розподілялися таким чином: I група – контрольна (n = 10); II – щури з моделюванням ХА (n = 6); III – була групою порівняння тварин у віковому аспекті (n = 10).

Усі процедури з експериментальними тваринами схвалені Комісією з питань етики та деонтології ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України» і виконані у відповідності до «Загальноетичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2011), «Порядку проведення науковими установами дослідів та експериментів на тваринах» (№ 249 від 01.03.2012), Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006).

ХА моделювали мікроін'єкційним введенням $A\beta_{40}$ у гіпокамп у дозі 15 нмоль/л, об'ємом його агрегованої форми 10 мкл на тварину. Тривалість введення через голку хроматографічного шприца була 5 хв, темп введення індивідуальної дози – 0,03 мкл/с. До контрольної групи ввійшли тварини з введенням у гіпокамп розчинника (бідистильованої води) аналогічного об'єму. Для ін'єкцій застосовували розчин $A\beta_{40}$ Human («China Peptides Co., Ltd») у бідистильованій воді, який піддавали агрегуванню протягом однієї доби при 37°C з наступним диспергуванням та стерилізацією ультразвуком безпосередньо перед введенням.

Тварин піддавали стереотаксичній операції з імплантації довгострокових електродів (ніхром у скляній ізоляції діаметром неізольованого кінчика 100 мк) у структури головного мозку відповідно до їх координат [15]: нюхові цибулини, мезенцефалічну ретикулярну формацію середнього мозку, гіпокамп (поле СА1), в який одночасно з цим вводили $A\beta_{40}$ або розчинник. Стаціонарну установку сталевих міографічних електродів вводили в ділянку верхнього косоного м'яза шиї. Кіркові ніхромові електроди розташовували епідурально в лобно-скроневій зоні мозку, індиферентний електрод – у кістці носової пазухи. Операції здійснювали за стерильних умов у стані загального наркозу (тіопентал натрію

внутрішньоочеревинно в дозі 50 мг/кг).

Поліграфічну реєстрацію сну проводили у період помірної емоційної активності щурів (з 10.00 до 15.00) за умов природної освітленості [16]. Електроенцефалограми (ЕЕГ) та міограми у біполярних відведеннях записували з використанням діагностичного комплексу «Нейрон-Спектр» на 7, 14, 21 і на 28-му добу після нейрохірургічного втручання, пов'язаного з моделюванням ХА, і в контрольній групі. З урахуванням поведінкових, електроенцефалографічних та електроміографічних характеристик ідентифікували неспання, фази повільно-хвильового і парадоксального сну. Разом з візуальним аналізом електрографічних показників циклу неспання–сон, визначали їх відсотковий вміст, латентні періоди розвитку сну та його парадоксальної фази, а також тривалість першого епізоду парадоксального сну. На основі побудови циклограм сну враховували кількість неповних (редукованих, позбавлених фази парадоксального сну) циклів від їх загальної кількості.

Статистичну обробку результатів для визначення вірогідності відмінностей між групами порівняння проводили із застосуванням програми «Excel» (непараметричний критерій t Стьюдента), а також пакета програм «Graph».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Кількісні характеристики функціональної організації сну, які були виявлені у контрольних 6- і 16-місячних щурів, відповідали уявленням про існування вікових особливостей циклу неспання-сон як однієї з основних базисних функцій адаптивної діяльності організму [17, 18]. В нашому дослідженні вони полягали в тому, що зі збільшенням віку відзначалося і збільшення (на 60%) загальної тривалості періоду неспання, що супроводжувалося скороченням (на 30,5%) фази повільного сну, в основному, за рахунок стадії глибокого повільного сну – 19,2% на відміну

від молодих шурів (41,8%; рис. 1). Разом з цим представленість фази парадоксального сну не залежала від періоду онтогенезу, становлячи $10,12 \pm 1,33$ і $9,91 \pm 1,28\%$ відповідно у контрольних тварин репродуктивного та пізнього зрілого віку.

Тривалість глибокого повільного сну залишалася стабільною і становила в середньому 11,1% до 21-ї доби формування моделі ХА, що було на 42,6% менше порівняно з контрольними тваринами відповідного віку і, напевно, виступало корелятом хронізації процесів розвитку нейродегенеративних змін внаслідок введення $A\beta_{40}$. До часу стабілізації моделі (28-ма доба) представленість глибокого повільного сну зменшувалася на фоні зростання його поверхневої стадії.

Такі результати добре узгоджуються із сучасними уявленнями про роль повільно-хвильового сну в генезі ХА [19], під час якого активується гліальна лімфатична система, що виконує в головному мозку функцію утилізації та виведення різноманітних протеїнів, які не піддаються протеолізу та накопичуються в період неспання, у тому числі й β -амілоїдних пептидів, що розглядається як біохімічні маркери ХА [13, 20, 21]. Більше того, показано,

що їх вміст у людей знижується під час сну і підвищується після пробудження, а порушення нічного сну у пацієнтів, що страждають на ХА, є практично її облігатним симптомом, причому вираженість інсомнії корелює з погіршенням пам'яті та інших когнітивних функцій [14, 22].

Водночас ранній етап розвитку патологічних змін (7-ма доба) після введення $A\beta_{40}$ характеризувався значним пригніченням (до $2,48 \pm 1,29\%$; $P < 0,001$) середньої тривалості фази парадоксального сну, яка на наступних етапах, трохи перевищуючи ($P > 0,05$) контрольні значення на 14-ту добу, надалі (на 21-шу добу розвитку ХА) практично відповідала нормі – $8,65 \pm 2,02\%$ для тварин пізнього зрілого віку. Суттєвий дефіцит парадоксального сну, майже до критичного зниження його представленості у вигляді фрагментарності та повної відсутності на 7-му добу (в період ініціації нейродегенеративних порушень), спостерігався в 30,3 і 50,0% випадків відповідно.

Середні значення латентного періоду сну (рис. 2) практично не залежали від терміну формування моделі ХА ($P > 0,05$). Латентний період розвитку парадоксального сну мав тенденцію до підвищення на 7-му добу

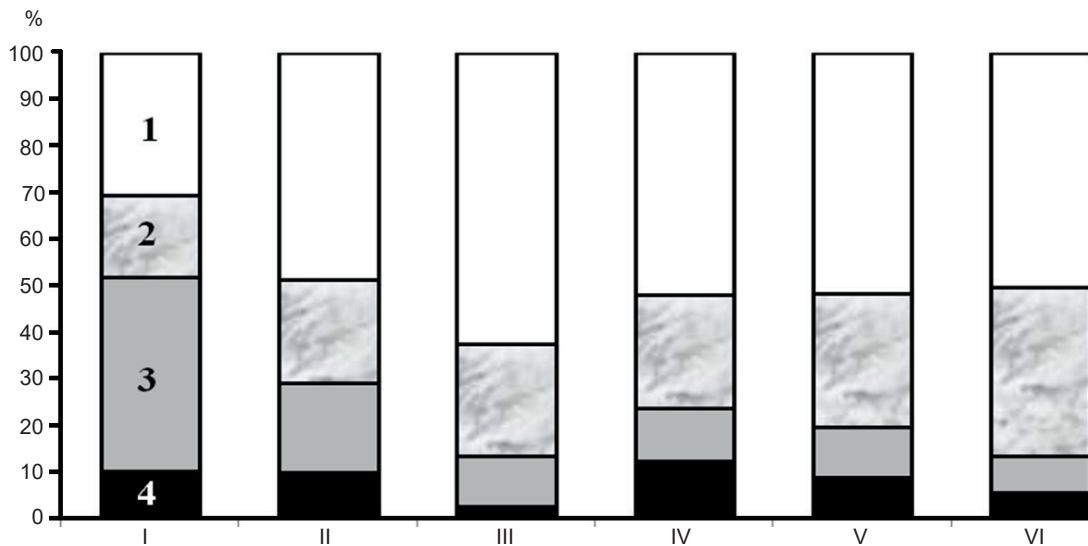


Рис. 1. Структурна організація циклу неспання–сон за умови моделювання хвороби Альцгеймера (ХА): 1 – неспання, 2 – поверхневий повільний сон, 3 – глибокий повільний сон, 4 – парадоксальний сон; I – контроль порівняння (репродуктивний вік); II – контроль (пізній зрілий вік), 7-ма доба після операції; III–VI – 7, 14, 21, 28-ма доба після операції з моделювання ХА відповідно

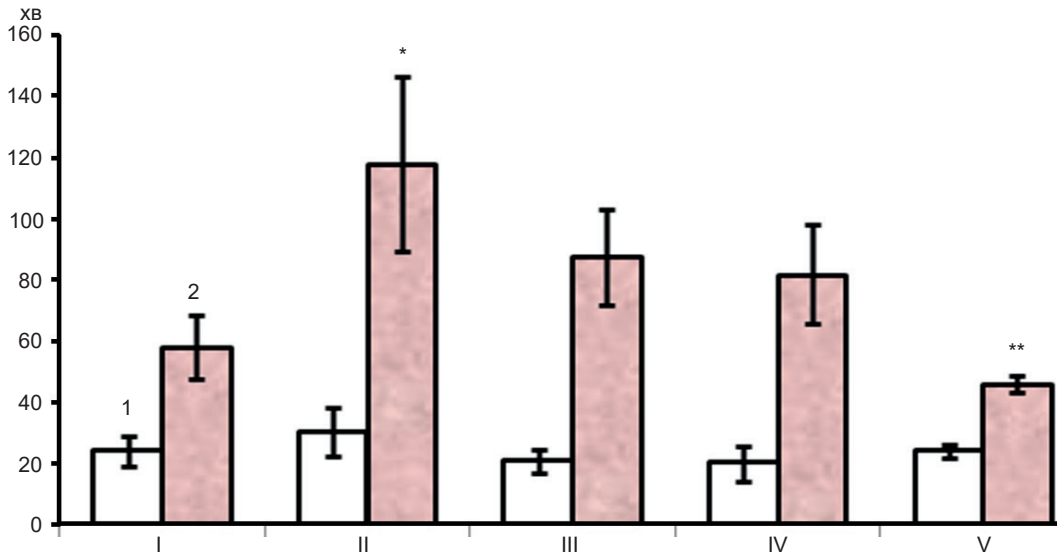


Рис. 2. Латентні періоди розвитку сну і його парадоксальної фази у циклі неспання–сон у інтактних тварин та на різних термінах моделювання хвороби Альцгеймера (ХА): 1 – латентний період, 2 – латентний період парадоксального сну; I – контроль, II-V – 7, 14, 21, 28-ма доба після операції з моделювання ХА відповідно; *P < 0,1 порівняно з контролем; **P < 0,05 порівняно із 7-ю добою

до $118,0 \pm 28,6$ хв, що разом з мінімальною його представленістю в циклі неспання–сон, очевидно, відображало істотний вплив нейротоксичних і нейрозапальних процесів, які індукують патогенетичні механізми формування експериментальної ХА [23].

Подальший розвиток моделі характеризувався стабільними значеннями латентного періоду парадоксального сну, які відображали тенденцію щодо нормалізації, не відрізняючись від контрольного рівня. Разом з цим середня тривалість першого епізоду парадоксального сну (рис. 3, б), як і його кількісна представленість у циклі неспання–сон (див. рис. 3, а), також відзначалися найменшими значеннями ($0,24 \pm 0,10$ хв; $2,48 \pm 1,29\%$) на 7-му добу, вірогідно збільшуючись з поглибленням термінів спостережень у межах контролю до 21-ї доби; та встановлювалися на рівні $0,62 \pm 0,15$ хв і $5,37 \pm 0,51\%$ на 28-

няючись від контрольного рівня. Разом з цим середня тривалість першого епізоду парадоксального сну (рис. 3, б), як і його кількісна представленість у циклі неспання–сон (див. рис. 3, а), також відзначалися найменшими значеннями ($0,24 \pm 0,10$ хв; $2,48 \pm 1,29\%$) на 7-му добу, вірогідно збільшуючись з поглибленням термінів спостережень у межах контролю до 21-ї доби; та встановлювалися на рівні $0,62 \pm 0,15$ хв і $5,37 \pm 0,51\%$ на 28-

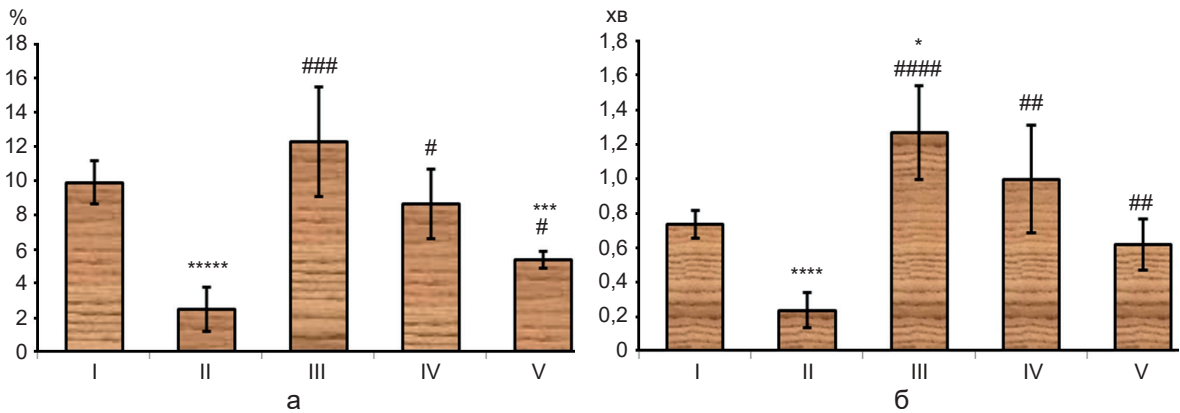


Рис. 3. Представленість фази парадоксального сну і тривалість його першого епізоду в циклі неспання–сон: а – фаза парадоксального сну, б – тривалість першого епізоду парадоксального сну; I – контроль, II-V – 7, 14, 21, 28-ма доба після операції з моделювання ХА відповідно; *P < 0,1; ***P < 0,02; ****P < 0,01; *****P < 0,001 порівняно з контролем; #P < 0,1; ##P < 0,05; ###P < 0,02; ####P < 0,01 порівняно з 7-ю добою

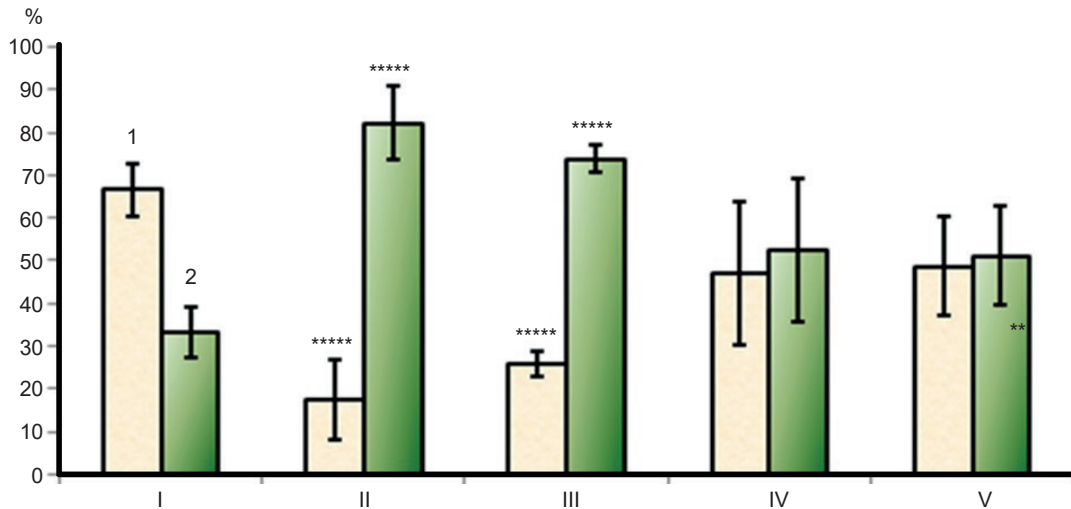


Рис. 4. Циклічна організація сну в динаміці розвитку моделі хвороби Альцгеймера (ХА): 1 – повний цикл, 2 – неповний цикл; I – контроль, II–V – 7, 14, 21, 28-ма доба після моделювання ХА відповідно; ****P < 0,0001 порівняно з контролем

му добу після індукції нейродегенеративних порушень. Отримані результати свідчать про залучення до патологічного процесу центрів регуляції парадоксального сну, локалізованих у задніх відділах мозку, що узгоджується з даними літератури про значний вплив його параметрів на ризик розвитку деменції [24].

При аналізі циклічної організації сну у контрольних і дослідних тварин показано переважання незавершених (неповних) циклів, найбільш виражене на початкових етапах формування (від 7-ї до 14-ї доби), що нівелювалося в процесі хронізації нейродегенеративної патології, характеризуючись практично однаковою кількістю повноцінних і редукованих циклів сну на 21-шу і 28-му добу (рис. 4, 5).

Таким чином, формування порушень циклу неспання-сон за умов моделювання ХА здійснювалося поетапно: до 14-ї доби, визначаючись терміною адаптивною спрямованістю сомногенних механізмів, і далі – стабілізацією нейрофізіологічних показників, зумовленою хронізацією наслідків амілоїдозу. Зважаючи на те, що нині важливою проблемою неврології та психіатрії є диференціація початкових стадій ХА від помірних когнітивних порушень іншого генезу, виявлені в нашому дослідженні зміни структурної організації циклу неспання-сон, зокрема,

– дефіцит парадоксального сну у поєднанні з пролонгуванням латентного періоду і скороченням тривалості його першого епізоду; зменшення представленості стадії глибокого повільно-хвильового сну, а також – порушення циклічності сну у вигляді превалювання його редукованих циклів, є перспективними як ранні прояви (предиктори) розвитку цієї патології для ідентифікації прогностичних критеріїв перебігу і розробки підходів щодо її корекції та попередження.

ВИСНОВКИ

За умов формування експериментальної ХА у тварин пізнього зрілого віку виявлені нейрофізіологічні особливості циклу неспання-сон, які включають: критичне зниження представленості фази парадоксального сну у поєднанні з пролонгуванням латентного періоду і скороченням тривалості його першого епізоду; суттєве зменшення представленості глибокого повільно-хвильового сну; превалювання незавершених (неповних) циклів неспання-сон. Їх виникнення та наступна стабілізація в процесі хронізації наслідків амілоїдозу дають змогу розглядати ці показники як ранні прояви розвитку нейродегенеративної патології.

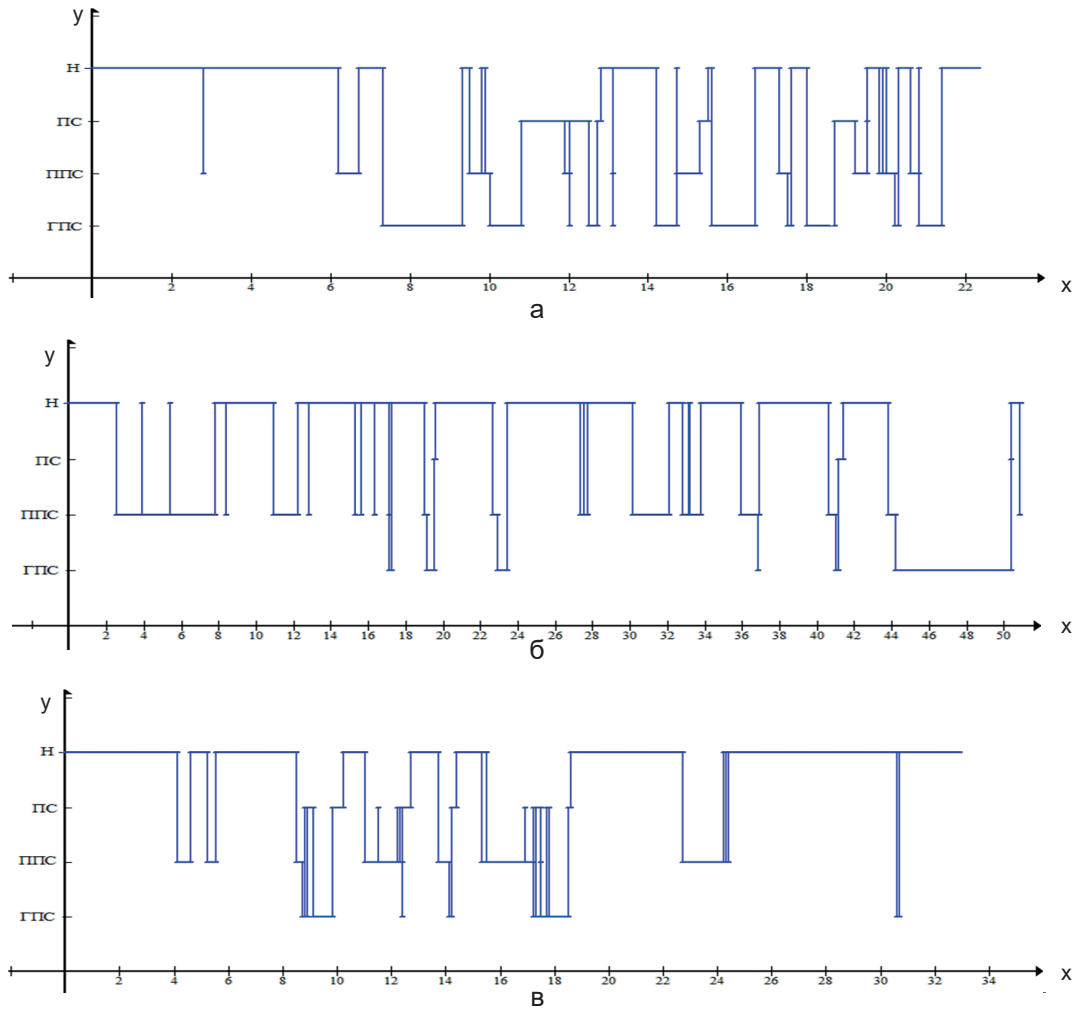


Рис. 5. Циклограми сну інтактних щурів і тварин з експериментальною хворобою Альцгеймера (ХА): за віссю X – тривалість сну, с; за віссю Y – фази і стадії сну (Н – неспання, ППС – поверхневий повільний сон, ГПС – глибокий повільний сон, ПС – парадоксальний сон); а – контроль, б, в – 7-ма і 28-ма доба відповідно після моделювання ХА

Автори виражають щирю вдячність О.В. Кириченко за практичну участь у підготовці, життєвому забезпеченні та догляді за експериментальними тваринами, а також комп'ютерному оформленні статті.

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.

В.В. Гейко, О.Г. Берченко, Н.А. Левичева, В.В. Соколик

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЦИКЛА БОДРСТВОВАНИЕ–СОН В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА У КРЫС

Исследовали особенности структурно-функциональной организации сна в динамике развития нейродегенеративной патологии у крыс при моделировании болезни Альцгеймера для изучения нейрофизиологических механизмов ее ранних проявлений. Показано, что формирование болезни Альцгеймера характеризовалось критическим снижением представленности фазы парадоксального сна в сочетании с пролонгированием латентного периода и

сокращением длительности его первого эпизода; существенным уменьшением стадии глубокого медленно-волнового сна; превалированием незавершенных (неполных) циклов бодрствование–сон. На основании возникновения и последующей стабилизации этих нарушений в процессе хронизации экспериментальной нейродегенеративной патологии сделан вывод о перспективности использования полученных показателей в качестве ранних проявлений (предикторов) болезни Альцгеймера для идентификации прогностических критериев ее течения и разработки подходов к коррекции.

Ключевые слова: цикл бодрствование–сон; фазы сна; β -амилоидный пептид; модель болезни Альцгеймера.

**V.V. Geyko, O. G. Berchenko, N. A. Levicheva,
V. V. Sokolik**

CHARACTERISTICS OF WAKE-SLEEP CYCLE ORGANIZATION UNDER ALZHEIMER'S DISEASE MODELING IN RATS

The features of sleep organization in the dynamics of neurodegenerative pathology in rats under Alzheimer's disease (AD) modeling were the aim of study of the neurophysiological mechanisms of early manifestations of AD. It was shown that developing of experimental AD can be characterized by neurophysiological features of sleep: inhibition of REM stage representation combined with prolongation of its latent period and reduction of its first episode duration; substantial reduction of deep slow-wave stage representation; dominance of incomplete cycles of sleep. It is concluded that the obtained data may be useful for the early diagnostics of AD and the development of approaches to AD correction.

Keywords: wake-sleep cycle; sleep phases; β -amyloid peptide; model of Alzheimer's disease.

*SI «Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»,
Kharkiv; e-mail: nbi.inpn@ukr.net*

REFERENCES

1. Mander B, Winer J, Jagust W, Walker M. Sleep: a novel mechanistic pathway, biomarker and treatment target in the pathology of Alzheimer's disease? *Trends Neuroscience*. 2016;39(8):552-66.
2. Trachtenberg R, Singer C, Kaye J. Symptoms of sleep disturbance in persons with Alzheimer's disease and normal elderly. *J Sleep Res*. 2005;14(2):177-85.
3. Urrestarazu E, Iriarte J. Clinical management of sleep disturbances in Alzheimer's disease: current and emerging strategies. *Nat Sci Sleep*. 2016;14(8):21-33.
4. Hart D, Craig D, Compton S, et al. A retrospective study of the behavioral and psychological symptoms of mid and late phase Alzheimer's disease. *Int. J. Geriatric Psychiat*. 2003;18(11):1037-42.
5. Garcia-Alberca J, Lara J, Cruz B, et al. Sleep disturbances in

- Alzheimer's disease are associated with neuropsychiatric symptoms and antedementia treatment. *J. Nerv Ment Dis*. 2013;201(3):251-70.
6. De Oliveira F, et al. Assessment of sleep satisfaction in patients with dementia due to Alzheimer's disease. *J Clin Neurosci*. 2014;21(12):2112-17.
7. Burke S, Maramaldi P, Cadet T, Kukull W. Associations between depression, sleep disturbance and apolipoprotein E in the development of Alzheimer's disease: dementia. *Psychogeriatrics*. 2016;28(9):1409-24.
8. Bub O, et al. Sleep, cognitive impairment and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Sleep*. 2017;40(1).
9. Cedernaes J, et al. Candidate mechanisms underlying the association between sleep-wake disruptions and Alzheimer's disease. *Sleep Med Rev*. 2017;31:102-11.
10. Lucey B, Bateman R. Amyloid- β diurnal pattern: possible role of sleep in Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurobiol Aging*. 2014;2:29-34.
11. Romanov AL, Kallistov DYU. Role of the systematic complications of obstructive sleep apnea in the development of cardiovascular pathology. *Fiziol Zh*. 2011;57(5):70-2.
12. Kang D, Lee Ch, Lim H. Role of sleep disturbance in the trajectory of Alzheimer's disease. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2017;15(2):89-99.
13. Xie L, Kang H, Xu Q, et al. Sleep drivers metabolite clearance from the adult brain. *Science*. 2013;342:373-7.
14. Makhinko VI, Nikitin VN. Constanta growth and functional periods of development in postnatal life of white rats. *Mol Physiol Mechanisms Age-related Dev*. 1975:304-25. [Russian].
15. Buresh Y, Petran M, Zakhar I. Electrophysiological research methods. 1962: 466 p.
16. Berchenko OG. Neurophysiological organization of cycle vigil-sleep at alcoholism of rats, formed in the different phases of emotional activity. *Physiol J USSR*. 1990;76(6):713-9. [Russian].
17. Rotenberg VS. Adaptive function of sleep, reason and display of its violations. M.: Science, 1982. [Russian].
18. Kovalzon VM. Functional neurochemical of cycle waken-sleep in pathogenesis of neurological diseases. *J Neurol Psychiat*. 2017;4(2):5-11. [Russian].
19. Madaeva IM, Berdina ON. Modern ideas of «slow sleep» and «ram sleep» and their role in pathogenesis of Alzheimer's disease (review of literature). *Acta Biomed Sci*. 2017;2(4):48-52. [Russian].
20. Andrew S, Yu L, Kowgier M, et al. Sleep modifies the relation of APOE to the risk of Alzheimer disease and neurofibrillary tangle pathology. *Neurology*. 2013;70(12).
21. Kostyuk OP, Korol' TYu, Korol' SV, Romanenko SV, Pinchenko VO, Kostyuk PH. Alteration of calcium signaling as one of the mechanisms of Alzheimer disease and diabetic polyneuropathy. *Fiziol Zh*. 2010;56(4):130-8. [Ukrainian].
22. Lundgaard I, et al. G-lymphatic clearance controls state-dependent changes in brain lactate concentration. *J Cereb Blood-flow Metab*. 2017;37(6):2112-24.

23. Berchenko OG, Sokolik VV, Geyko VV, Levicheva NO, Bevzyuk DO. Neurobiological mechanisms of early manifestations of neuron-degenerative pathology in the intrahippocampal administration of β -amyloid peptide 40 aggregates in rats. Fiziol Zh. 2019;65(3):47. [Ukrainian].
24. Pase P, Himali J, Grima N, et al. Sleep architecture and the risk of incident dementia in the community. Neurology. 2017;89(12):1244-50.

*Матеріал надійшов до
редакції 14.02.2019*