

## КОМОРБІДНІ ПОРУШЕННЯ ЦИКЛУ СПАННЯ-НЕСПАННЯ У КІНДЛІНГОВИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ АНТАГОНІСТА H<sub>3</sub>-РЕЦЕПТОРІВ ПІТОЛІЗАНТА

**О. С. Єгоренко**

Одеський національний медичний університет, м. Одеса, Україна

*Дослідження нейропатологічних механізмів хронічної епілептичної активності, які виникають за участі ендогенної гістамінергічної системи головного мозку, дають змогу обґрунтувати ефективні комплексні засоби контролю як судомних проявів, так і коморбідних станів, до яких належать розлади сну та неспання.*

**Мета роботи** – вивчити характеристики циклу сну-неспання у щурів із пентилентетразоль-індукованим кіндлінгом за умови застосування антагоніста H<sub>3</sub>-рецепторів пітолізанта.

**Матеріал і методи.** У щурів лінії Вістар формували кіндлінговий синдром шляхом щодобового застосування пентилентетразолу (ПТЗ) (35,0 мг/кг, в/очер) протягом трьох тижнів. За 30 хв до введення ПТЗ-кіндлінгу застосовували пітолізонт (5,0 мг/кг, в/очер).

**Результати.** У щурів із розвиненим кіндлінгом визначено скорочення фази парадоксального сну до 7,1% від загального періоду спостереження (4 години) та збільшення його фрагментованості на 39,7% порівняно з групою контролю ( $P < 0,05$ ). Латентний період парадоксального сну був на 24,0% меншим від показника в групі контролю ( $P < 0,05$ ). На тлі введення пітолізанту зростала тривалість фази неспання на 29% від загального часу спостереження ( $P > 0,05$ ). Водночас тривалість парадоксального сну становила 11,6% ( $P > 0,05$ ), а фази повільнохвильового сну – 71,0% ( $P > 0,05$ ). Число циклів сну-неспання надмірно перевищувало показник у групі контролю на 17,2% ( $P > 0,05$ ). Латентний період засинання перевищував показник у групі контролю на 44,1% ( $P < 0,05$ ) та у кіндлінгових щурів – на 60,2% ( $P < 0,05$ ). Латентний період парадоксального сну був на 34,2% вищим, ніж у кіндлінгових щурів ( $P < 0,05$ ).

**Висновки.** Формування ПТЗ-кіндлінгу супроводжується скороченням латентного періоду виникнення та загальної тривалості парадоксальної фази сну, а також зростанням його фрагментованості. Блокування H<sub>3</sub>-гістамінових рецепторів пітолізантом у період формування кіндлінгу введеннями пентилентетразолу запобігає виникненню розладів циклу неспання-сну.

**Ключові слова:**

пентилентетразольний кіндлінг, цикл неспання-сну, судомний синдром, H<sub>3</sub>-рецептори гістаміну, пітолізонт.

Клінічна та експериментальна патологія 2023. Т.22, №3 (85). С. 11-15.

DOI:10.24061/1727-4338.XXII.3.85.2023.02

E-mail: odsimcentre@gmail.com

### COMORBID DISORDERS OF THE SLEEP CYCLE – AWAKENESS IN KINDLING RATS UNDER THE CONDITIONS OF USING THE H<sub>3</sub> RECEPTOR ANTAGONIST PITOLISANT

**O. S. Yehorenko**

Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine

*Studies of the neuropathophysiological mechanisms of chronic epileptic activity, which arise with the participation of the endogenous histaminergic system of the brain, allow us to justify effective complex means of controlling both convulsive manifestations and comorbid states, which include sleep and wakefulness disorders.*

**Aim of the work** – to study the characteristics of the sleep-wake cycle in rats with PTZ-induced kindling under the condition of using the H<sub>3</sub> receptor antagonist pitolisant.

**Methods.** The kindling syndrome was induced in Wistar rats by daily administration of pentylenetetrazole (PTZ) (35.0 mg/kg, i.p.) for three weeks. In rats in the course of kindling development, pitolisant (5,0 mg/kg, i.p.) was used for 30 min before epileptogen administration.

**Research results.** In rats with developed kindling, the paradoxical sleep phase was reduced to 7,1% of the total observation period (4 hours) and its fragmentation increased 39,7% and the latent period of paradoxical sleep was 24,0% less compared to the control group ( $P < 0,05$ ). Pitolizant treatment was accompanied by an increase in the duration of the awake phase, which was 29% of the total observation time ( $P > 0,05$ ). At the same time, the duration of paradoxical sleep was 11,6% ( $P > 0,05$ ), and the slow-wave sleep phase was 71,0% ( $P > 0,05$ ). The number of sleep-wake cycles unreliably exceeded the indicator in the control group 17,2% ( $P > 0,05$ ). Latent periods of falling asleep exceeded the indicator in the control group 44,1% ( $P < 0,05$ ) and at the same time was higher than in kindling rats 60,2% ( $P < 0,05$ ). The latency period of paradoxical sleep was 34.2% higher than kindling rats ( $P < 0,05$ ).

**Key words:**

pentylenetetrazol kindling, sleep – wakefulness cycle, seizure syndrome, H<sub>3</sub> histamine receptor, pitolisant.

Clinical and experimental pathology 2023. Vol.22, № 3 (85). P. 11-15.

**Conclusions.** The formation of PTZ-kindling is accompanied by a reduction in the latent period of emergence and the total duration of the paradoxical phase of sleep, as well as an increase in its fragmentation. Blocking of  $H_3$  histamine receptors by pitolisane during the formation of kindling by administration of pentylenetetrazol prevents the occurrence of wake-sleep cycle disorders.

### Вступ

Гістамінові  $H_3$ -рецептори відіграють важливу роль у патогенезі багатьох неврологічних захворювань, у тому числі – епілепсії [1, 2]. Встановлено, що застосування антагоніста  $H_3$ -рецепторів E177 зумовлює протисудомний ефект, позитивно впливає на порушення навчання у щурів із пентилентетразол (ПТЗ) -індукованим кіндлінгом [1]. Крім того, блокування  $H_3$ -рецепторів супроводжується зростанням вмісту відновленого глутатіону, активності каталази, супероксиддисмутази, а також зменшенням вмісту малонового діальдегіду.

Модель хронічної епілептизації мозку, яка створюється шляхом повторного застосування епілептогену в підпороговій дозі, адекватно відтворює ознаки клінічних форм захворювання, в тому числі – порушення циклу неспання-спання [3]. На сьогодні, однак, не досліджувався характер циклу сну-не сну у щурів із хронічною формою епілептичного синдрому за умов застосування блокувальних  $H_3$ -рецепторів, хоч для впливу подібних препаратів характерним є модуляція вмісту в тканині гіпокампу ацетилхоліну та норадреналіну, які регулюють циркадіанні цикли [4, 5].

### Мета дослідження

Вивчити характеристики циклу сну-не сну у щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом за умов застосування антагоніста  $H_3$ -рецепторів пітолізанту.

### Матеріал і методи дослідження

Експериментальне дослідження виконано в умовах гострого експерименту на щурах-самцях

(кількість 27) лінії Вістар масою 180-230 г, що утримувались за стандартних умов на базі віварію Одеського національного медичного університету. Досліди проводили згідно з вимогами GLP та комісії з питань біоетики при Одеському національному медичному університеті, якою порушень при проведенні експериментів не виявлено (протокол № 3 від 05 травня 2022 р.).

Реєстрація проведена протягом другої години реєстрації циклу неспання-спання.

Кіндлінг відтворювали шляхом однократних щодобових введень субконвульсивної дози ПТЗ (35,0 мг/кг, в/очер) («Sigma-Aldrich», США) протягом трьох тижнів [6, 7]. Для спостережень використовували щурів, у яких три останні ін'єкції викликали генералізовані клоніко-тонічні судомні напади. Тяжкість судом оцінювали відповідно до шестибальної шкали [3].

На моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу вивчали ефекти пітолізанту (Selleck, 5.0 мг/кг, в/очер). Препарат застосовували в/очер за 30 хв до введення ПТЗ. Щурам групи контролю за аналогічних умов вводили розчинник пітолізанту диметилсульфоксид.

Методика реєстрації фаз циклу неспання-спання полягала у безперервному спостереженні щурів в індивідуальних боксах за відсутності шуму та при денному освітлені в період з 10.00 до 14.00 [6, 7]. За поведінковими характеристиками визначали такі показники циклу: активне та пасивне неспання, повільнохвильовий сон (ПХС) та парадоксальний сон (ПС) [6, 7]. Крім того, досліджували латентні періоди засинання (ЛПЗ) та парадоксального сну (ЛППС). Кожну верифіковану фазу тривалістю більше, ніж 30 с, реєстрували у вигляді діаграми (рис. 1).

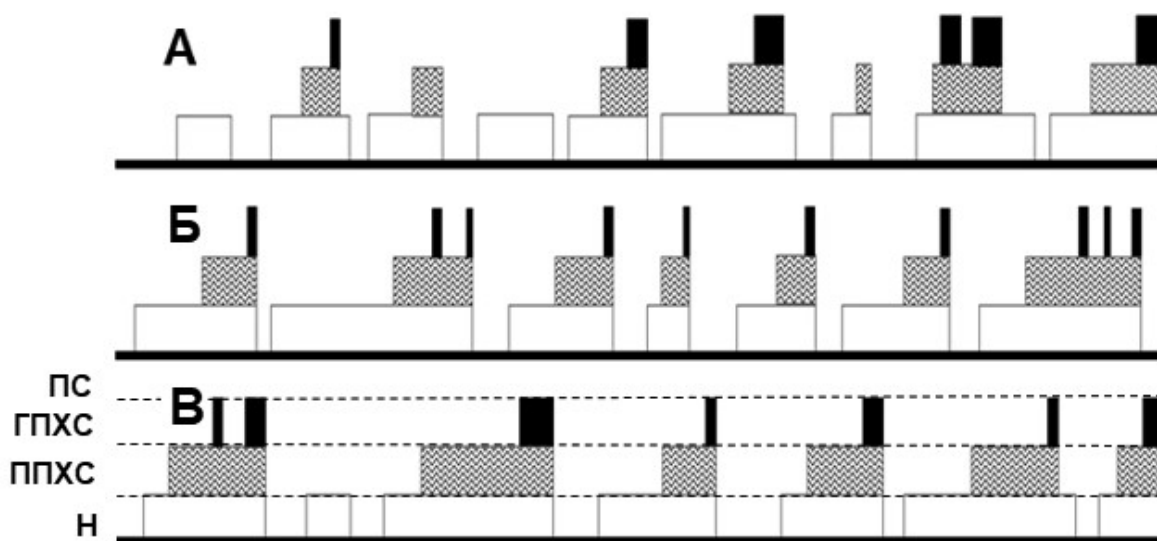


Рис. 1. Цикли сну-не сну кіндлінгових щурів за умов застосування пітолізанту.

Примітки: А – контроль; Б – кіндлінг; В – кіндлінг+пітолізант; ПС – парадоксальний сон; ГПХС – глибокий повільнохвильовий сон; ППХС – поверхневий повільнохвильовий сон; Н – неспання.

Оцінку результатів досліджень проводили з використанням статистичних критеріїв – ANOVA + Newmann – Keuls.

#### Результати та їх обговорення

У щурів групи контролю стан неспання займав 27% всього часу спостереження (рис. 2). Водночас загальна тривалість фаз парадоксального та повільнохвильового сну становила 12,5% та 60,1%

від усього періоду спостереження відповідно. Латентний період засинання та парадоксального сну становили відповідно 30,7±4,5 та 50,3±5,3 хв. Число повних циклів сну дорівнювало 12.33±3.56.

У щурів із розвиненими кіндлінговими судомами стан неспання займав 21.8% ( $P>0,05$ ), парадоксального сну – 7,1% ( $P<0,05$ ), та повільнохвильового сну – 71,1% від тривалості періоду спостереження ( $P>0,05$ ) (рис. 2).

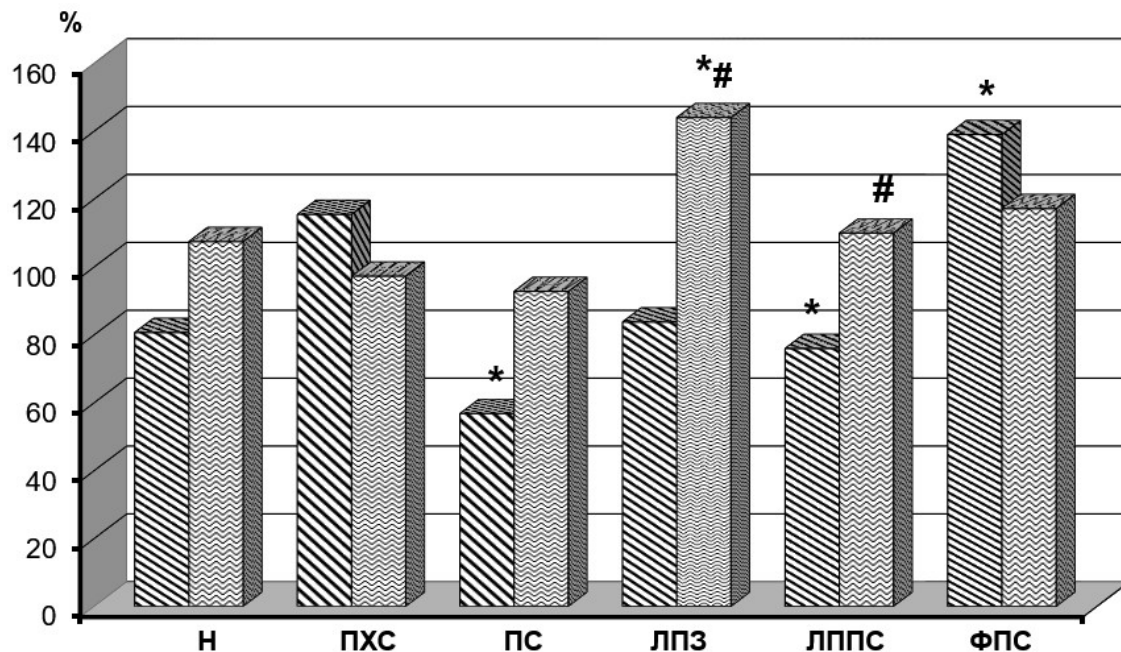


Рис. 2. Характеристики циклу неспання-спання у кіндлінгових щурів за умови застосування пітолізанту. По вісі ординат – показники в групі контролю, які прийнято за 100%.

Примітки: H – неспання, ПХС – повільнохвильовий сон, ПС – парадоксальний сон, ЛПЗ – латентний період засинання, ЛППС – латентний період парадоксального сну, ФПС – фрагментованість парадоксального сну.

\*-  $P<0,05$  порівняно з контролем, #-  $P<0,05$  порівняно з кіндлінговими щурами (ANOVA + Newmann–Keuls).

Латентний період парадоксального сну був на 24,0% меншим від показника в групі контролю ( $P<0,05$ ). Число циклів сну-неспання перевищувало показник у групі контролю на 39,7% ( $P<0,05$ ) (див. рисунки 1Б, 2).

Застосування пітолізанту супроводжувалося недостовірним зростанням тривалості фази неспання, яке становило 29,0% від загального часу спостереження ( $P>0,05$ ) (див. рис. 2). Водночас тривалість парадоксального сну становила 11,6% ( $P>0,05$ ) та фази повільнохвильового сну – 59,4% ( $P>0,05$ ). Число циклів сну-неспання недостовірно перевищувало показник у групі контролю на 17,2% ( $P>0,05$ ). Під впливом пітолізанту латентний період засинання перевищував показник у групі контролю на 44,1% ( $P<0,05$ ), у групі кіндлінгових щурів – на 60,2% ( $P<0,05$ ). Латентний період парадоксального сну також достовірно (на 34,2%) був вищим, ніж у кіндлінгових щурів ( $P<0,05$ ) (див. рис. 2).

Отже, для моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу характерними були ефекти, скорочення загальної тривалості парадоксального сну, а також латентного періоду його настання при збільшенні фрагментованості. Скорочення тривалості парадоксального сну за умов кіндлінгу також було встановлено в дослідженнях [5, 6].

Слід зазначити, що єдиним джерелом гістамінергічних впливів на структури мозку є туберомамільярна зона – гістамінергічні впливи поширюються на кору мозку. Таламус та кора, виходячи із морфологічного розподілу гістамінергічних терміналей, повинні мати дифузний вплив, результатом якого є виникнення пробудження (ароузаль-реакція) [1, 8]. Зниження активності гістамінергічної системи мозку, навпаки, призводить до домінування стану сну. Число гістамінергічних нейронів збільшується на тлі формування нарколепсії, однак залишається дискусійним питання щодо того, чи виникає за цих умов зростання вмісту гістаміну в тканині мозку [4, 9]. Подібні сумніви пов'язані з тим, що препарати, які збільшують вивільнення гістаміну, є ефективними щодо пригнічення надмірного сну, зокрема у хворих на нарколепсію [1, 4]. Можливим поясненням подібних протиріч є просторовий розподіл гістамінергічних терміналей та недифузний вплив на нейрони структур, відповідальних за механізми сну та неспання, а більш специфічний, який потребує подальшого вивчення, а також здатність пітолізанту зумовлювати інверсні агоністичні впливи на гістамінові рецептори [1].

Застосування пітолізанту на моделі порушень циклу неспання-спання у ПТЗ-кіндлінгових щурів супроводжувалось ефектом зростання загальної тривалості фази ПС, а також зменшенням числа його фрагментів. Крім того, спостерігалось збільшення латентностей як засинання, так і виникнення парадоксального сну. Подібний характер впливу пітолізанту відповідає захисній адаптивній ролі, яку відіграє парадоксальний сон за умов впливу патогенних чинників, у тому числі – за умови епілептизації головного мозку [6, 7, 9].

### Висновки

1. Формування ПТЗ-кіндлінга супроводжується скороченням латентного періоду виникнення та загальної тривалості парадоксальної фази сну, а також зростанням його фрагментованості.

2. Блокування H3-гістамінових рецепторів пітолізантом у період формування кіндлінгу введеннями пентилентетразолу запобігає виникненню розладів циклу неспання-спання.

Фінансова підтримка здійснена МОЗ України за програмою НДР № 0121U114510.

### Список літератури

- Scammell TE, Jackson A, Franks NP, Wisden W, Danvillers Y. Histamine: neural circuits and new medications. *Sleep* [Internet]. 2019[cited 2023 Oct 25];42(1): zsy183. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6335869/pdf/zsy183.pdf> doi: 10.1093/sleep/zsy183
- Garg D, Charlesworth L, Shukla G. Sleep and temporal lobe epilepsy – associations, mechanisms and treatment implications. *Front Hum Neurosci* [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 23];26(16):849899. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9086778/pdf/fnhum-16-849899.pdf> doi: 10.3389/fnhum.2022.849899
- Godlevsky LS, Pinyazhko OR, Poshvyak OB. Cerebellar contribution to absence epilepsy. *bioRxiv* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 26];11(10):376004. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.11.10.376004v1.full.pdf> doi: 10.1101/2020.11.10.376004
- Alachkar A, Azimullah S, Lotfy M, Adeghate E, Ojha SK, Beiram R, et al. Antagonism of histamine H3 receptors alleviates pentylenetetrazole-induced kindling and associated memory deficits by mitigating oxidative stress, central neurotransmitters, and c-Fos protein expression in rats. *Molecules* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 23];25:1575. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7181068/pdf/molecules-25-01575.pdf> doi: 10.3390/molecules25071575
- Schilling M, Wetzel W, Grecksch G, Becker A. Pentylenetetrazole kindling affects sleep in rats. *Epilepsia*. 2007;47(12):2075-82. doi: 10.1111/j.1528-1167.2006.00854.x
- Смірнов ІВ. Особливості циклу сон-неспання у щурів на різних стадіях відтворення коразолового кіндлінгу. *Одеський медичний журнал*. 2008;2:20-2.
- Myronenko S, Pinyazhko O, Lesyk R. Effects of 4-thiazolidinone derivatives Les-2658 and Les-1205 on sleep – wakefulness

cycle in kindled rats. *Eureka: Life Sciences*. 2017; 1:51-6. DOI: 10.21303/2504-5695.2017.00289.

- Nollet M, Hicks H, McCarthy AP, Wu H, Möller-Levet CS, Laing EE, et al. REM sleep's unique associations with corticosterone regulation, apoptotic pathways, and behavior in chronic stress in mice. *Proc Nat Acad Sci*. 2019;116(7):2733-42. doi: 10.1073/pnas.1816456116
- Shouse MN, Scordato JC, Farber PR. Sleep and arousal mechanisms in experimental epilepsy: epileptic components of NREM and antiepileptic components of REM sleep. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2004;10(2):117-21. doi: 10.1002/mrdd.20022

### References

- Scammell TE, Jackson A, Franks NP, Wisden W, Danvillers Y. Histamine: neural circuits and new medications. *Sleep* [Internet]. 2019[cited 2023 Oct 25];42(1): zsy183. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6335869/pdf/zsy183.pdf> doi: 10.1093/sleep/zsy183
- Garg D, Charlesworth L, Shukla G. Sleep and temporal lobe epilepsy – associations, mechanisms and treatment implications. *Front Hum Neurosci* [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 23];26(16):849899. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9086778/pdf/fnhum-16-849899.pdf> doi: 10.3389/fnhum.2022.849899
- Godlevsky LS, Pinyazhko OR, Poshvyak OB. Cerebellar contribution to absence epilepsy. *bioRxiv* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 26];11(10):376004. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.11.10.376004v1.full.pdf> doi: 10.1101/2020.11.10.376004
- Alachkar A, Azimullah S, Lotfy M, Adeghate E, Ojha SK, Beiram R, et al. Antagonism of histamine H3 receptors alleviates pentylenetetrazole-induced kindling and associated memory deficits by mitigating oxidative stress, central neurotransmitters, and c-Fos protein expression in rats. *Molecules* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 23];25:1575. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7181068/pdf/molecules-25-01575.pdf> doi: 10.3390/molecules25071575
- Schilling M, Wetzel W, Grecksch G, Becker A. Pentylenetetrazole kindling affects sleep in rats. *Epilepsia*. 2007;47(12):2075-82. doi: 10.1111/j.1528-1167.2006.00854.x
- Smirnov IV. Osoblyvosti tsykladu son-nespannia u shchuriv na riznykh stadiakh vidtvorennia korazolovoho kindlinhu [Peculiarities of the sleep-wake cycle in rats at different stages of corazol kindling reproduction]. *Odeskyi medychnyi zhurnal*. 2008;2:20-2. (in Ukrainian)
- Myronenko S, Pinyazhko O, Lesyk R. Effects of 4-thiazolidinone derivatives Les-2658 and Les-1205 on sleep – wakefulness cycle in kindled rats. *Eureka: Life Sciences*. 2017; 1:51-6. DOI: 10.21303/2504-5695.2017.00289.
- Nollet M, Hicks H, McCarthy AP, Wu H, Möller-Levet CS, Laing EE, et al. REM sleep's unique associations with corticosterone regulation, apoptotic pathways, and behavior in chronic stress in mice. *Proc Nat Acad Sci*. 2019;116(7):2733-42. doi: 10.1073/pnas.1816456116
- Shouse MN, Scordato JC, Farber PR. Sleep and arousal mechanisms in experimental epilepsy: epileptic components of NREM and antiepileptic components of REM sleep. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2004;10(2):117-21. doi: 10.1002/mrdd.20022

### Відомості про авторів:

Сторенко О. С. – асистент кафедри симуляційних медичних технологій Одеського національного медичного університету, м. Одеса, Україна.

E-mail: [olhayehorenko@gmail.com](mailto:olhayehorenko@gmail.com)

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1464-9690>

**Information about the authors:**

Yehorenko O. S. – assistant of professor of the Department of Simulation Medical Technologies, Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine.

E-mail: [olhayehorenko@gmail.com](mailto:olhayehorenko@gmail.com)

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1464-9690>

*Стаття надійшла до редакції 30.08.2023*

*© О. С. Єгоренко*

