



Опыт применения транскраниальной электростимуляции постоянным током с целью улучшения исходов нейротрансплантации у крыс с паркинсонизмом, индуцированным 6-гидроксидофамином

А.В. Ставровская¹, Д.Н. Воронков¹, И.А. Потапов¹, Д.С. Титов²,
А.С. Ольшанский¹, А.К. Павлова¹, О.С. Лебедева³, С.Н. Иллариошкин¹

¹Научный центр неврологии, Москва, Россия;

²Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана, Москва, Россия;

³Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Неуклонно растущее число пациентов с болезнью Паркинсона диктует необходимость поиска новых терапевтических подходов к её лечению. Одним из перспективных методов представляется сочетание трансплантации нейрональных предшественников, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, и транскраниальной электростимуляции (ТЭС).

Цель исследования: изучить влияние ТЭС постоянным током на состояние клеточного трансплантата и моторные симптомы паркинсонического синдрома у крыс.

Материалы и методы. Паркинсонический синдром у крыс Вистар моделировали односторонним интранигральным введением 6-гидроксидофамина (6-ГДА; 12 мкг на 3 мкл). Нейротрансплантацию (3×10^5 клеток в 10 мкл) осуществляли в хвостатые ядра мозга животных-моделей на стороне повреждения. ТЭС постоянным током проводили в течение 14 дней. Изменения поведения животных анализировали в тестах «открытое поле» и «сужающаяся дорожка». В морфохимическом исследовании оценивали развитие и морфологические характеристики трансплантата.

Результаты. Нейротрансплантация не оказала значимого влияния на поведение крыс с паркинсонизмом, однако в сочетании с ТЭС привела к увеличению двигательной активности крыс в тесте «открытое поле», по сравнению с группой крыс-моделей ($p = 0,0014$), и ослаблению у них невротоподобного состояния ($p = 0,048$) в тестах через 3 нед после введения трансплантата. В тестах, проведённых через 3 мес, эти эффекты не наблюдались. Морфохимическое исследование выявило большие размеры трансплантата у животных, подвергнутых ТЭС, по сравнению с контролем, и смещение клеток в краевую зону трансплантата. Показано также, что стимуляция провоцирует деление части клеток, находящихся на ранних стадиях дифференцировки, и способствует активному формированию синаптических контактов.

Заключение. Сочетание нейротрансплантации и ТЭС на 6-ГДА-индуцированной модели паркинсонизма демонстрирует потенциал данной технологии для коррекции как двигательных, так и недвигательных проявлений заболевания. Для успешной трансляции метода в клинику необходимы дальнейшая оптимизация протоколов трансплантации и ТЭС, оценка долгосрочной эффективности и безопасности.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; модели на животных; нейротрансплантация; транскраниальная электростимуляция

Этическое утверждение. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 10-7/20 от 27.11.2020).

Источник финансирования. Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 24-45-00052.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 105064, Россия, Москва, пер. Обуха, д. 5, стр. 2. Институт мозга Научного центра неврологии. E-mail: alla_stav@mail.ru. Ставровская А.В.

Для цитирования: Ставровская А.В., Воронков Д.Н., Потапов И.А., Титов Д.С., Ольшанский А.С., Павлова А.К., Лебедева О.С., Иллариошкин С.Н. Опыт применения транскраниальной электростимуляции постоянным током с целью улучшения исходов нейротрансплантации у крыс с паркинсонизмом, индуцированным 6-гидроксидофамином. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2024;18(4):44–54.

DOI: <https://doi.org/10.17816/ACEN.1199>

Поступила 29.09.2024 / Принята в печать 02.11.2024 / Опубликовано 25.12.2024

Transcranial Direct Current Stimulation for Improvement of Neurotransplantation Outcomes in Rats with 6-Hydroxydopamine-Induced Parkinsonism

Alla V. Stavrovskaya¹, Dmitry N. Voronkov¹, Ivan A. Potapov¹, Daniil S. Titov²,
Artem S. Olshansky¹, Anastasiia K. Pavlova¹, Olga S. Lebedeva³, Sergey N. Illarioshkin¹

¹Research Center of Neurology, Moscow, Russia;

²Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russia;

³Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. With the number of patients with Parkinson's disease steadily growing, the need for novel treatment approaches is increasing. Combining transplantation of neuronal progenitors derived from induced pluripotent stem cells and transcranial direct current stimulation (tDCS) is among the promising methods.

Aim: to examine the effect of tDCS on the cell graft condition and motor symptoms of Parkinson's syndrome in rats.

Materials and methods. Parkinson's syndrome was modeled in Wistar rats by the unilateral intranigral injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA; 12 µg in 3 µL). The model rats underwent neurotransplantation (3×10^5 cells in 10 µL) into the caudate nuclei on the affected side. The animals underwent tDCS for 14 days. Behavioral changes were analyzed by open field and beam-walking tests. Development and morphological characteristics of the graft were assessed by the morphochemical study.

Results. Neurotransplantation had no significant effect on the behavior of rats with parkinsonism; however, combined with tDCS, it increased motor activity during the open field tests compared with the group of model rats ($p = 0.0014$) and mitigated their anxiety-related behaviors ($p = 0.048$) in tests at 3 weeks after the transplantation. These effects were not observed in tests at 3 months. The morphochemical study revealed larger graft sizes in the animals that underwent tDCS compared with the controls and cell shift to the marginal zone of the graft. Stimulation was also shown to induce division of a part of cells at early stages of differentiation and promote active synaptogenesis.

Conclusion. Combining neurotransplantation and tDCS in the 6-OHDA-induced model of parkinsonism demonstrated its potential to manage both motor and non-motor symptoms. Optimizing protocols of transplantation and tDCS and evaluating their long-term efficacy and safety are required to successfully implement this method into clinical practice.

Keywords: Parkinson's disease; animal models; neurotransplantation; transcranial direct current stimulation

Ethics approval. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (Protocol No. 10-7/20, 27 November, 2020).

Source of funding. The work was supported by the Russian Science Foundation grant (project # 24-45-00052).

Conflict of interest. The authors declare that they have no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 5, build. 2, Obukha lane, Moscow, 105064, Russia. Brain Institute, Research Center of Neurology.
E-mail: alla_stav@mail.ru. Stavrovskaya A.V.

For citation: Stavrovskaya A.V., Voronkov D.N., Potapov I.A., Titov D.S., Olshansky A.S., Pavlova A.K., Lebedeva O.S., Illarioshkin S.N. Transcranial direct current stimulation for improvement of neurotransplantation outcomes in rats with 6-hydroxydopamine-induced parkinsonism. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2024;18(4):44–54.

DOI: <https://doi.org/10.17816/ACEN.1199>

Received 29.09.2024 / Accepted 02.11.2024 / Published 25.12.2024

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) относится к числу наиболее распространённых нейродегенеративных заболеваний, приводящих со временем к тяжёлой инвалидизации пациента [1]. Патогенез БП до конца не ясен. Известно, что причиной основных моторных проявлений БП является гибель дофаминергических нейронов компактной части чёрной субстанции (кЧС) с последующей дегенерацией нигростриарного пути и развивающимся дефицитом нейромедиатора дофамина в стриатуме. Дегенерацию нигральных нейронов часто связывают с накоплением в их цитоплазме агрегированных форм фосфорилированного белка α -синуклеина, формирующих тельца и нейриты Леви. Помимо аккумуляции α -синуклеина, в поражённых дофаминергических нейронах обнаружены признаки митохондриальной дисфункции [2]. Результаты многочисленных современных исследований на моделях животных и пациентах указывают на ключевую роль нейровоспаления в инициации и прогрессировании нейродегенерации в области кЧС [3], а также на развитие окислительного стресса в поражённой ткани мозга [4, 5].

На настоящий момент не существует эффективной терапии БП, останавливающей её прогрессирование, а современные методы лечения способствуют лишь облегчению многочисленных симптомов БП, которые можно разделить на моторные и немоторные. При этом немоторные проявления заболевания чаще всего возникают задолго до появления двигательных нарушений, и их чёткая диагностика может помочь начать своевременное лечение [6, 7].

Для уточнения причин возникновения БП и поиска новых методов борьбы с этой патологией используется широкий спектр моделей на лабораторных животных. Одним из наиболее распространённых методов моделирования БП является стереотаксическое введение нейротоксинов в определённые структуры мозга, что исключает их системное воздействие на организм [8].

Одностороннее стереотаксическое введение 6-гидроксидофамина (6-ГДА) в кЧС, селективно поражающее дофаминовые нейроны, служит оптимальной моделью для экспериментальной апробации методов нейротрансплантации (НТ) при БП [9]. Трансплантация клеток-предшественников дофаминергических нейронов в хвостатые ядра позволяет восполнить дефицит дофамина в этой структуре, что, в свою очередь, может в какой-то степени влиять на течение нейродегенеративного процесса. Использование для трансплантации индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) и их производных, в том числе полученных от самого пациента, позволяет добиться ослабления иммунной реакции организма реципиента, исключает возникновение этических проблем и снимает ограничение на количество трансплантируемых клеток [10]. Важно, что при трансплантации ИПСК возрастает доля клеток-предшественников, переживших адаптацию и дифференцировавшихся в здоровые дофаминергические нейроны. Однако задача выживаемости и полноценного функционирования клеток трансплантата не до конца решена [10–13].

Транскраниальная электростимуляция (ТЭС) представляет собой неинвазивный и безопасный метод нейромодуляции, успешно применяемый в неврологии для коррекции ряда патологических состояний [14]. Данные литературы подтверждают возможность различных видов электростимуляции ослаблять двигательные и немоторные симптомы БП [15, 16]. Помимо этого, показано, что использование ТЭС благоприятно влияет на дифференцировку и выживаемость клеток нейротрансплантата [15, 16]. Таким образом, комбинирование ТЭС и НТ может стать перспективным направлением в терапии БП.

Расширение спектра экспериментов с ТЭС обозначило необходимость разработки и изготовления многоканального лабораторного электростимулятора для мелких экспериментальных животных. Сотрудниками лаборатории экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии Института мозга Научного центра неврологии совместно с инженерами МГТУ им. Н.Э. Баумана был спроектирован и технически реализован образец многоканального аппарата для ТЭС, поддерживающего различные режимы работы.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния ТЭС постоянным током на состояние клеточного трансплантата и моторные симптомы 6-ГДА-индуцированного паркинсонического синдрома у крыс, подвергшихся НТ с использованием производных ИПСК человека.

Материалы и методы

Животные

Все эксперименты проводили с соблюдением надлежащих биоэтических норм по работе с лабораторными животными, в том числе с возможным сокращением числа использованных животных. Исследования одобрены этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 10-7/20 от 27.11.2020).

Работа проведена на самцах крыс Вистар ($n = 40$), полученных из питомника ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (филиал «Столбовая») в возрасте 3,5 мес, с массой тела 300–350 г на начало эксперимента.

Манипуляции с животными осуществляли в соответствии с требованиями European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (CETS No. 170), Приказом МЗ РФ № 119Н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил лабораторной практики», а также руководствуясь «Правилами работы с лабораторными грызунами и кроликами» (ГОСТ 33216-2014). Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде, в режиме 12-часового чередования света и темноты. До начала эксперимента животные находились на 14-дневном карантине.

Хирургические процедуры

Для проведения стереотаксических операций животных помещали на раму лабораторного стереотаксиса («Stoelting Co.», «RWD Life Science Co. Ltd.»), скальп

надрезали и с помощью портативной бормашины про-
сверливали в черепе трепанационные отверстия для
доступа к определённым структурам мозга. При разме-
щении животных в стереотаксическом аппарате между
животным и рабочей поверхностью помещали ватно-мар-
левый матрас, чтобы избежать переохлаждения во время
и после операции.

Для анестезии использовали золетил-100 («Valdepharm»;
растворитель – «Delpharm Tours») в дозе 3 мг/100 г и кси-
лу («Interchemie Werken "De Adelaar" B.V.») в дозе 3 мг/кг,
которые вводили внутримышечно. Для премедикации вво-
дили атропин («Дальхимфарм») в дозе 0,04 мг/кг подкожно
за 10–15 мин до введения ксилы.

Для получения модели паркинсонического синдрома
животным ($n = 32$) в кЧС справа вводили селективный
токсин дофаминергических нейронов 6-ГДА («Sigma»)
в дозе 12 мкг в 3 мкл 0,05% раствора аскорбиновой
кислоты по следующим координатам атласа Paxinos
[17]: AP = -4,8; L = 1,9; V = 8,0 (рис. 1). В чёрную суб-
станцию слева вводили растворитель в том же объёме.
Ложнооперированным (контрольным) животным ($n = 8$)
вводили растворитель билатерально в том же объёме.

Через 25 дней после введения 6-ГДА животным ($n = 24$)
была проведена трансплантация клеток – нейрональных
предшественников – в хвостатые ядра мозга по следую-
щим координатам атласа Paxinos: AP = 1,5; L = 2,2; V = 4,5.
Способ анестезии описан выше. Контрольным животным
без введения нейротоксина (группа K1; $n = 8$) и части
животных с введением 6-ГДА клеточный трансплантат
не вводили, в хвостатые ядра мозга билатерально инъ-
ецировали физиологический раствор в том же объёме
(группа K2; $n = 8$).

Трансплантацию клеток осуществляли унилатераль-
но, на стороне повреждения. В хвостатые ядра через
микрошприц «Hamilton» вводили суспензию, содержа-

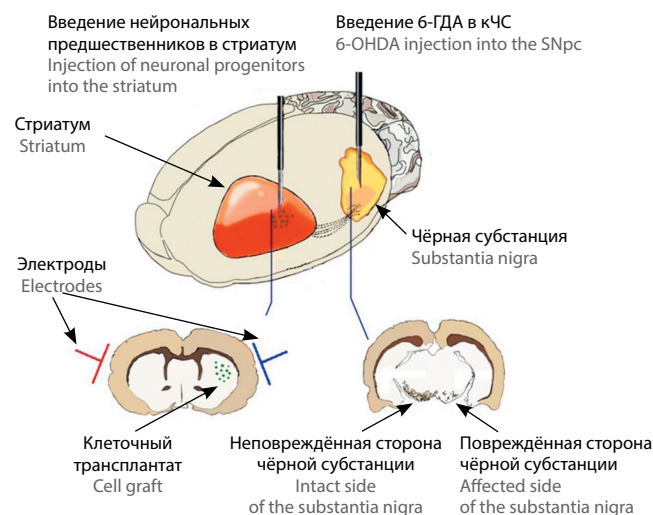


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая моделирование паркинсонического синдрома и последующую НТ.

Fig. 1. Schematic representation of modeling Parkinson's syn-
drome and subsequent NT.

щую 3×10^5 клеток в 10 мкл физиологического раствора,
с постоянной скоростью в течение 5 мин. После инъ-
екции микрошприц оставляли на месте в течение ещё
2 мин, затем медленно извлекали. В хвостатые ядра сле-
ва вводили физиологический раствор в том же объёме.
За 1 день до операции по трансплантации клеток и да-
лее ежедневно в течение всего эксперимента животные
получали циклоспорин в дозе 12 мг/кг.

Клеточные культуры были получены в лаборатории кле-
точной биологии ФНКЦ физико-химической медицины
им. Ю.М. Лопухина. Нейроны были дифференцированы
из ИПСК здорового донора (мужчина без неврологиче-
ских патологий, 60 лет), полученных из фибробластов
кожи после процедуры подписания информированного
согласия. Используемая линия ИПСК IPSRG4S была оха-
рактеризована согласно общепринятым стандартам [18].
Линия имеет нормальный кариотип. Плюрипотентность
линии ИПСК IPSRG4S была подтверждена на молекуляр-
ном и функциональном уровнях. ИПСК дифференцирова-
ли в нейрональном направлении, затем полученные ран-
ние нейрональные предшественники дифференцировали
для получения нейрональных предшественников вен-
трального среднего мозга (НПВСМ). Для трансплантации
были использованы НПВСМ, соответствующие 24-м сут-
кам дифференцировки. Способ дифференцировки ИПСК
и состав сред предоставляются по требованию.

Далее крысы с введением 6-ГДА и НТ были разделены
на 3 равные группы по 8 животных. Крысам группы Т+ТЭС
проводили ТЭС постоянным током, используя созданную
новую модель лабораторного электростимулятора, крысы
группы Т+С получили ложную стимуляцию с седацией, жи-
вотным группы Т не проводили ни стимуляцию, ни седацию.

Билатеральная ТЭС постоянным током

ТЭС постоянным током начинали проводить на 5-е сутки
после трансплантации НПВСМ в дорсолатеральную об-
ласть хвостатого ядра.

Созданный нами автономный электростимулятор пред-
ставляет собой программируемое устройство на базе
микропроцессора, которое можно рассматривать как ге-
нератор стабильного тока разнообразных форм, использу-
емых для ТЭС у лабораторных животных. Прибор состоит
из программируемого задающего генератора, многока-
нального преобразователя «напряжение–ток», источника
питания и органов управления. Задающий генератор на
базе микропроцессора выбранной серии с помощью про-
граммы генерирует поток данных, описывающих в форма-
те Pulse Code Modulation форму, амплитуду и временные
характеристики (частоту и длительность) действующего
тока. Все параметры стимуляции задаются с помощью
панели управления и отображаются на дисплее.

Передача данных между блоками аппарата и элемента-
ми схемы осуществляется через общий для всей системы
интерфейс I2C – стандартное промышленное решение,
имеющее невысокую стоимость при достаточном бы-
стродействии и надёжности. Далее поток данных через
гальваническую развязку на основе микросхем ADuM

поступает в цифроаналоговый преобразователь на базе микросхемы МСР4725. Гальваническая развязка необходима для обеспечения электробезопасности устройства и увеличения помехозащищённости.

Цифроаналоговый преобразователь преобразует поток данных в аналоговый сигнал — изменяющееся в соответствии с потоком данных напряжение, используемое в качестве управляющего сигнала для генератора стабильного тока. Далее сигнал поступает на вход генератора стабильного тока, предназначенного для формирования воздействующего сигнала — изменяющегося во времени тока заданных экспериментатором параметров.

Применение микропроцессора дало возможность гибко изменять параметры тока стимуляции соответственно задачам эксперимента.

Технические характеристики устройства:

- число каналов — до 16;
- диапазон регулировки частоты — от постоянного тока (0 Гц) до 80 Гц;
- диапазон регулировки тока — от 0 до 1 мА;
- форма импульсов — различная, включая прямоугольные, треугольные, синусоидальные и шумоподобные сигналы.

Перед процедурой ТЭС животное иммобилизовали путём внутримышечного введения раствора дексметомидина 0,5% («Дексдомитор», «Орион Фарма») в объёме 0,5 мл/кг и помещали на подстилку, обладающую теплоизолирующими свойствами, для предотвращения переохлаждения. На глазные яблоки наносили кератопротекторное средство — 0,5% раствор гипромеллозы («Искусственная слеза», «Фирн М»). Волосяной покров с височных областей головы тщательно удаляли для улучшения адгезии и уменьшения электрического сопротивления, кожу на висках обезжировали, часть электродов MedTab (23 × 34 мм, «Seracarta») симметрично устанавливали на височных зонах таким образом, чтобы воображаемая линия, проходящая через их центры, пересекала геометрический центр клеточного трансплантата (рис. 2). Анод устанавливали на контрлатеральной трансплантату стороне, катод — на ипси-



Рис. 2. Проведение ТЭС одновременно 4 крысам.

Fig. 2. Simultaneous tDCS in 4 rats.

латеральной. С помощью стимулирующего устройства на электроды подавали постоянный ток 0,5 мА в течение 20 мин, затем электроды отсоединяли, с височных областей водой удаляли остатки клейкого слоя электродов.

Животное возвращали в домашнюю клетку, где через 30 мин ему вводили 0,5% раствор атипамезола («Антиседан», «Orion Corporation») в дозе 0,2 мл/кг внутримышечно для ускорения выхода из седации. Промежуток времени между окончанием сеанса стимуляции и инъекцией атипамезола необходим для предотвращения расчёсывания участков кожи, находившихся под электродами (что, возможно, вызвано парестезией в местах прикрепления электродов и является очень частым побочным эффектом электростимуляции) [19].

Сеансы стимуляции проводили 1 раз в день в одно и то же время на протяжении 14 последовательных дней. Во время первых процедур по стимуляции производили дистанционный контроль температуры электродов и окружающих кожных покровов с помощью лазерного пирометра («Raytek»).

При проведении ложной ТЭС все процедуры проводили аналогично описанным выше, но электрический ток на электроды не подавали.

Поведенческие эффекты

Поведенческие эффекты токсического воздействия, последующей НТ и ТЭС оценивали по изменению двигательной активности экспериментальных крыс в тестах «открытое поле» (ОП) и «сужающаяся дорожка» (СД). Продолжительность теста ОП — 3 мин, тестирование проводили трижды: до введения клеток, через 3 нед и 3 мес спустя. Поведение крыс регистрировали с помощью системы видеонаблюдения «Any-Maze» («Stoelting Inc.»).

В тесте СД экспериментальное животное должно пройти по верхней планке от начала дорожки до укрытия. Учитывали время прохождения и процент соскальзываний конечностей на нижнюю планку от общего числа шагов по СД. В данном эксперименте также была проведена оценка психоэмоционального состояния животных с присвоением баллов по шкале невротизации [20, 21]. Учитывали проявления «нестандартной» поведенческой активности, которые могли быть отнесены к внешним признакам неврозоподобного состояния: навязчивые повороты головы, жевательные движения, активное обнюхивание и лизание установки, повороты вокруг своей оси, пячение, груминг, сокращения диафрагмы, птоз и др. Животных обучали выполнению теста СД в течение 3 дней, по 2 сессии в день с перерывом 1 ч, перед проведением стереотаксических операций на мозге. Максимальное время тестирования — 100 с.

Для определения статистической значимости различий использовали факторный дисперсионный анализ (ANOVA), для сравнения между группами — апостериорный тест Фишера. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Результаты представляли в виде среднего арифметического $\pm$ стандартная ошибка среднего.

Через 3 мес после проведения НТ и по окончании физиологического исследования крыс половину числа животных из каждой группы декапитировали и извлекали головной мозг для последующего иммуногистохимического анализа.

Иммуногистохимия и морфометрия

В иммуноморфологическом исследовании были использованы образцы мозга от 4 крыс из каждой группы. Для морфологической оценки состояния трансплантата через 3 мес после введения клеток животных декапитировали. Мозг фиксировали 24 ч в 10% формалине. Для исследования использовали замороженные фронтальные срезы (10 мкм толщиной). Демаскирование антигенов проводили нагреванием в цитратном буфере (0,01 М, pH 6,0), срезы инкубировали с первичными антителами 18 ч при комнатной температуре, для выявления связывания использовали соответствующие вторичные антитела, меченные флуорохромами Atto 488 или Atto 555 («Invitrogen»). Срезы докрашивали DAPI. Для выявления клеток трансплантата применяли антитела к Human nuclear antigen (HNA) и видоспецифичные антитела к нейрональной енолазе (NSE) человека. Помимо этого, для оценки интеграции трансплантата использовали антитела к синаптическому белку синаптофизину (SYP). Подробнее результаты трансплантации были охарактеризованы ранее с помощью расширенной панели нейрональных и глиальных маркерных белков [13].

На фронтальных срезах, используя объектив $\times 4$, оценивали площадь сечения трансплантата в стриатуме животных по результатам выявления NSE. Выбирали не менее 3 срезов, на которых выявляли трек иглы на всю глубину введения. Для подсчёта площади на изображениях использовали программу «NIS-Elements».

Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей. Для сравнения групп использовали тест Манна–Уитни.

Результаты

Все животные хорошо перенесли хирургические процедуры и ТЭС и на протяжении всего исследования находились в удовлетворительном состоянии. Регулярные ежедневные осмотры ветеринарным врачом не выявили у крыс изменений физиологических отклонений, наличия порфириновых выделений из глаз и носа, поредения волосяного покрова. При вскрытии тел животных после декапитации новообразований не обнаружено.

Тестирование поведения экспериментальных животных проводили до введения НПВМС (соответственно, через 25 дней после введения 6-ГДА в КЧС – тест 1), по окончании курса ТЭС (3 нед после НТ – тест 2) и спустя 3 мес после НТ НПВМС (тест 3).

На рис. 3 показана величина пройденной дистанции в ОП крысами контрольных групп K1 и K2, без введения клеточного трансплантата. Введение 6-ГДА приводило к статистически значимому снижению двигательной активно-

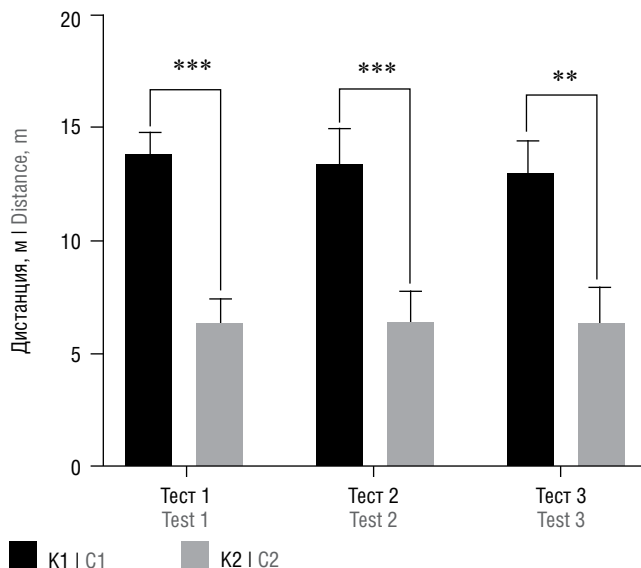


Рис. 3. Оценка двигательной активности крыс в тесте ОП. * $p_A < 0,05$ по сравнению с группой K2.

Fig. 3. Motor activity assessment by the OF test in the rats. * $p_A < 0.05$ compared with group C2.

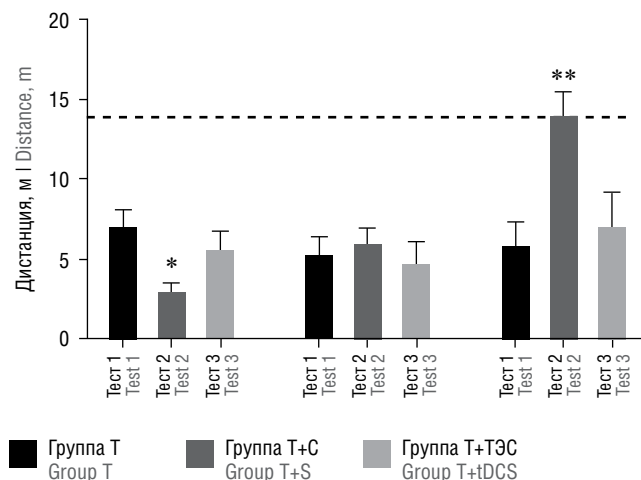


Рис. 4. Дистанция, пройденная в ОП модельными животными с НТ. * $p_A < 0,05$ по сравнению с тестом 1.

Fig. 4. Distance traveled in the OF test by the model animals after NT. * $p_A < 0.05$ compared with test 1.

сти животных, которое сохранялось во всех проведённых тестах: в тесте 1 – $13,990 \pm 0,881$ и $6,387 \pm 1,112$ (ANOVA, $p(p_A) = 0,0005$), в тесте 2 – $13,469 \pm 1,572$ и $6,439 \pm 1,406$ ($p_A = 0,0007$), в тесте 3 – $13,076 \pm 1,406$ и $6,404 \pm 1,575$ ($p_A = 0,0013$) в группах K1 и K2 соответственно.

Изменения двигательной активности модельных животных после трансплантации нейрональных предшественников в дорсолатеральную область хвостатого ядра представлены на рис. 4. Следует напомнить, что к моменту проведения теста 2 части крыс (группа T+TЭС) был проведён курс ТЭС постоянным током. Из рис. 4 видно, что у крыс группы T+C, получавших декдомитор для проведения ложной ТЭС, двигательная

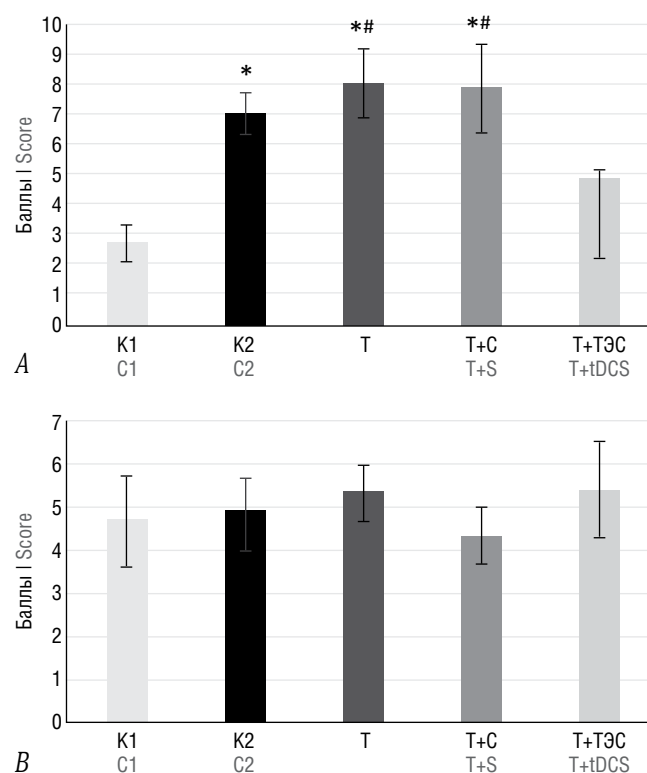


Рис. 5. Показатель неврозоподобного состояния в тестах СД через 3 нед (А) и 3 мес (В) после НТ.

* $p_A < 0,05$ по сравнению с группой K1; ** $p_A < 0,05$ по сравнению с группой T+TЭC.

Fig. 5. Anxiety-related behavior score in the BW tests at 3 weeks (A) and 3 months (B) after NT.

* $p_A < 0.05$ compared with group C1; ** $p_A < 0.05$ compared with group T+TЭC.

активность осталась на уровне, зафиксированном до введения клеток, — $5,946 \pm 1,011$ и $5,233 \pm 1,229$ ($p_A = 0,9436$), в отличие от достоверно снизившейся у крыс без седации — $3,006 \pm 0,601$ и $6,996 \pm 1,178$ ($p_A = 0,0227$). У крыс на фоне ТЭС дистанция, пройденная в ОП, увеличилась более чем вдвое: $14,069 \pm 1,094$ и $5,635 \pm 1,511$ ($p_A = 0,0014$). При тестировании двигательной активности через 3 мес после НТ ни в одной из групп крыс с трансплантатом не выявлялось её изменение по сравнению с тестом 1.

В тесте СД через 3 нед после НТ также выявлены значимые различия между группами K1 и K2, большей частью это выражалось в отказе крыс с введением 6-ГДА в кЧС продвигаться по дорожке, а также отчётливыми ($p_A = 0,01$) признаками неврозоподобного состояния (рис. 5, А). В связи с этим численные значения количества отступаний статистическими методами обработать не представилось возможным. Введение НПВСМ и курс ТЭС не оказали влияния на движение экспериментальных крыс по установке СД. Однако, если у крыс групп Т и Т+С наблюдалось неврозоподобное состояние, показатели которого значимо отличались по сравнению с группой K1 (8,00 и 7,83 балла против 2,67 балла соответственно при $p_A = 0,0005$ и $p_A = 0,001$), то у крыс группы Т+ТЭC этот показатель был существенно ниже и не имел статистически достоверных различий с группой K1 (4,71 и 2,67;

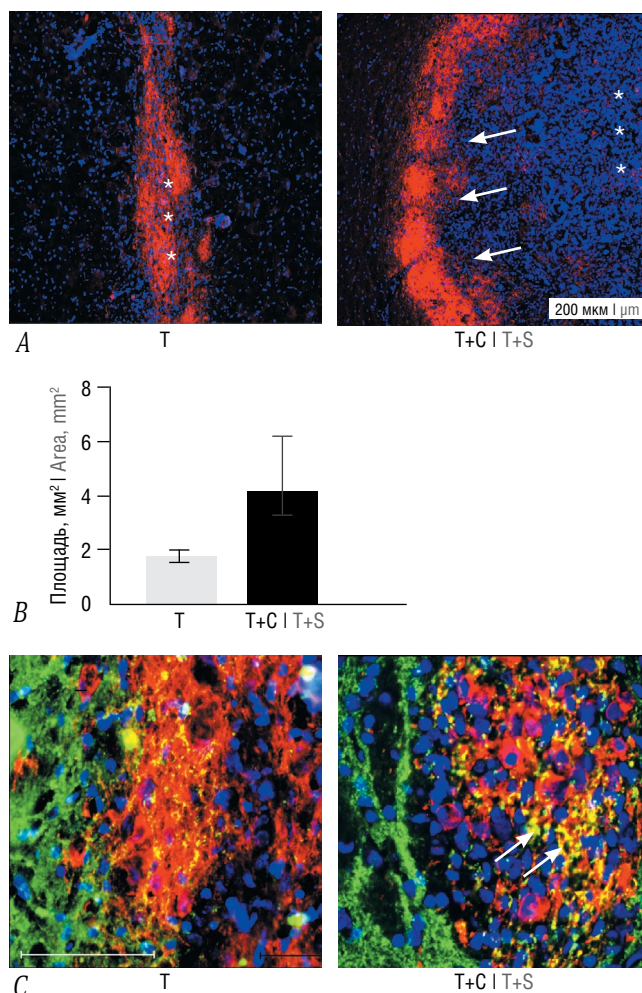


Рис. 6. Локализация трансплантированных нейронов в контрольной группе (24 сут дифференцировки) и после воздействия ТЭС через 3 мес после трансплантации.

А — смещение NSE⁺-клеток (показано красным) в краевую зону трансплантата (стрелки), центральная зона обозначена звездочками; В — размеры трансплантата; С — увеличение областей колокализации синаптофизина (показано зелёным) и NSE (показано красным) под действием ТЭС (стрелки). Ядра клеток докрашены DAPI (показано синим).

Fig. 6. Localization of transplanted neurons in the control group (day 24 of differentiation) and after tDCS at 3 months following the transplantation.

А — shift of NSE⁺ cells (shown in red) to the marginal zone of the graft (arrows), the central zone is indicated by asterisks; В — graft size; С — increase in SYP (shown in green) and NSE (shown in red) colocalization areas caused by tDCS (arrows). Cell nuclei were counterstained with DAPI (shown in blue).

$p_A = 0,139$). Также он значительно различался по сравнению с группами Т и Т+С ($p_A = 0,017$ и $p_A = 0,029$ соответственно). В тесте через 3 мес после НТ разница этих показателей между группами нивелировалась, что согласуется с данными теста ОП (рис. 5, В).

В предыдущих морфологических исследованиях трансплантатов было показано снижение окрашивания на тирозингидроксилазу на стороне введения 6-ГДА [12, 13], свидетельствующее о повреждении нейронов кЧС. Также

к 3-му месяцу в трансплантате выявляли 3–5% дофаминергических нейронов, а миграция клеток, экспрессирующих маркеры зрелых нейронов, за пределы области трансплантации не установлена.

У животных, подвергнутых ТЭС постоянным током, размеры трансплантата были больше по сравнению с контролем (рис. 6). Ранее нами показана зональная структура трансплантатов у животных без воздействия ТЭС [13] с преимущественной локализацией NSE⁺-клеток (зрелых нейронов) в центральной зоне и формированием глиального чехла вокруг трансплантата. Под влиянием ТЭС морфология трансплантата изменялась: после стимуляции наблюдалось смещение NSE-окрашивания в краевую зону трансплантата, причём расположенную наружу. Размеры трансплантата в стриатуме были значимо выше ($p = 0,002$, тест Манна–Уитни) после воздействия ТЭС. В контрольной группе медианная площадь NSE⁺-окрашивания составила 1,695 [1,45; 1,89] мм², а под действием ТЭС – 4,04 [3,08; 6,03] мм². Центральные области в группе животных после воздействия ТЭС состояли из HNA⁺-клеток с низким уровнем экспрессии NSE. Вероятно, стимуляция могла провоцировать деление части клеток, находящихся на ранних стадиях дифференцировки, что требует дальнейшего изучения. Выявление синаптофизина может свидетельствовать о развитии синаптогенеза в трансплантате к 3-му месяцу. Ранее нами было показано нарастание экспрессии синаптофизина по мере созревания нейронов [13]. Более выраженное окрашивание на синаптофизин и перекрытие с NSE⁺-структурами может отражать влияние ТЭС на формирование синаптических контактов с трансплантированными нейронами.

Таким образом, морфологическое исследование показало влияние ТЭС на развитие и морфологические характеристики трансплантата и миграцию клеток в пределах области трансплантации. Патологических изменений в окружающих трансплантат структурах не выявили. По-видимому, ТЭС оказывала влияние как на дифференцировку и миграцию, так и на интеграцию нейронов трансплантата, что требует дальнейшего исследования.

Обсуждение

НТ представляется одним из перспективных методов лечения БП. Уменьшение выраженности моторных симптомов БП является основным ожидаемым поведенческим эффектом НТ. Большей частью такой эффект был показан в работах по НТ эмбриональных дофаминергических нейронов вентрального среднего мозга [22, 23], однако введение таких клеток вызывало, кроме этических проблем, тяжёлые трансплантат-индуцированные дискинезии. Другим источником клеточных трансплантатов, содержащих аутологичные дофаминергические нейроны, являются ИПСК, полученные в результате репрограммирования фибробластов с помощью экспрессии в них пептидных факторов плюрипотентности [24], после чего по различным протоколам осуществляется дифференцировка ИПСК *in vitro* в нейрональном направлении [11]. Критериями морфофункционального соответствия дофаминергических нейронов, дифференцированных из ИПСК, нативным дофаминергическим нейронам служат следующие

показатели: выживаемость трансплантированных нейронов, интенсивность нейритного роста из трансплантата, формирование в стриатуме диффузной сети дофаминергических терминалей, высвобождение из них дофамина, параметры их биоэлектрической активности, а также восстановление утраченных моторных функций у животных с моделью БП [25]. В наших исследованиях при аналогичном протоколе дифференцировки ранее было показано развитие дофаминовых нейронов и формирование их отростков в трансплантате к 3–6 мес [12, 13]. Трансплантация нейрональных предшественников у животных с моделями БП показала определённые преимущества перед трансплантацией фетальных клеток, однако достигнутые позитивные результаты пока являются недостаточно хорошо воспроизводимыми [25, 26]. Это связано с рядом факторов: типом и качеством трансплантируемых клеток, используемой моделью БП, индивидуальными особенностями животных-реципиентов. Оптимизация этих факторов позволит повысить эффективность лечения и стабильность поведенческих эффектов.

Самостоятельным перспективным терапевтическим подходом при нейродегенеративных заболеваниях является применение неинвазивных методов нейромодуляции [14, 27]. Они включают различные формы ТЭС низкой интенсивности – такая стимуляция постоянным током является наиболее изученной, а её влияние на нейропластичность в моторной коре зависит от полярности. В настоящей работе мы сосредоточились на катодной полярности, при которой потенциал покоя мембраны гиперполяризуется (в отличие от анодной, когда потенциал покоя мембраны деполяризуется) [28]. Катодная ТЭС постоянным током по стандартным протоколам снижает возбудимость коры и может вызывать гомосинаптическую долговременную депрессию при достаточно большой длительности стимуляции. Кроме длительности и интенсивности, очень важна частота повторения стимуляции как фактор эффективности катодной стимуляции, от которого зависит продолжительность нейропластического эффекта. Механизмы, лежащие в основе благотворного воздействия ТЭС, пока не до конца изучены; для полного их понимания, проверки безопасности метода и оптимизации параметров стимуляции используются модели на животных, в частности, грызунах [29–31]. При выборе параметров стимуляции для нашего исследования мы руководствовались данными, полученными из литературных источников, поскольку ранее такие работы нами не проводились [15, 16, 32]

Показано, что использование ТЭС благоприятно влияет на дифференцировку и выживаемость клеток нейротрансплантата [15, 16]. В исследованиях, проведённых нами ранее [12, 13], установлено, что после трансплантации происходит функциональное созревание нейронов трансплантата в сроки до 3 мес, причём наибольшие изменения экспрессии белков дифференцировки клеток наблюдаются в срок до 1 мес и продолжаются до 3 мес после трансплантации, что определяет возможные временные рамки воздействия на трансплантат при помощи ТЭС постоянным током для улучшения созревания нейронов. Следует отметить, что в ряде проведённых экспериментов [12] трансплантат содержал смешанную глионейрональную культуру,

и часть клеток давала начало популяции астроцитов. Обсуждаются возможные механизмы влияния ТЭС постоянным током на астроциты [33], которые могут оказывать существенный эффект как на ответ астроглии хозяина при трансплантации, так и на астроциты донора при использовании смешанных культур. Таким образом, комбинирование ТЭС и НТ может стать перспективным направлением в терапии БП.

Установленные в нашей работе увеличение размеров трансплантата и изменение его морфологии могут свидетельствовать о влиянии ТЭС непосредственно на трансплантированные клетки, их созревание и интеграцию в стриатум реципиента. Вместе с тем эффекты ТЭС на поведение и развитие трансплантата могут быть обусловлены рядом факторов, в том числе воздействием на нейроны стриатума, неокортекса и других структур мозга, вовлечённых в регуляцию двигательной активности животных, меняющим баланс возбуждающих и тормозных влияний [34], влиянием на глиальные клетки, включающим противовоспалительные эффекты [35] и увеличение экспрессии BDNF [36], участвующего в пластических изменениях в нервной системе.

Хотя модели на животных предоставляют собой мощный инструмент для выявления нейробиологических механизмов действия ТЭС, найти генератор тока, который прост в использовании и позволяет применять широкий диапазон параметров стимуляции, может быть сложно и/или дорого [37]. В большинстве случаев при изучении эффектов ТЭС отечественные экспериментаторы используют импортные приборы, к примеру, «Alpha-Stim» («Electromedical Products International, Inc.»). Подобные устройства предназначены для процедур ТЭС при лечении тревоги, бессонницы, депрессии и боли, они эффективны, безопасны, просты в использовании и имеют необходимые разрешения от регуляторов. Однако они имеют ряд конструктивных особенностей, ограничивающих их применение в лабораторной практике. Это касается формы генерируемых импульсов, диапазона частот, диапазона установки тока, длительности импульсов.

Условия экспериментов при изучении ТЭС требуют значительно более широкого диапазона регулирования параметров стимулирующего тока — к примеру, требуется ток в виде импульсов с синусоидальным наполнением и постоянной составляющей или шумоподобным сигналом. Технические ограничения аппаратуры ТЭС продиктовали необходимость разработки оригинального аппарата, предназначенного в первую очередь для лабораторного использования и свободного от недостатков существующих и коммерчески доступных устройств. Такой стимулятор был разработан и изготовлен с помощью специалистов МГТУ им. Н.Э. Баумана в виде опытного образца. Аппарат «Бета-Стим» представляет собой программируемый генератор стабильного тока в диапазоне

частот от постоянного тока до 80 Гц при произвольной (задаваемой экспериментатором) форме сигнала и диапазоне величин тока от 1 мкА до 1 мА. Он разрабатывался для применения в экспериментах на мелких грызунах. Прибор прост в эксплуатации, изготовлен с широким применением отечественных свободно доступных комплектующих, свободен от лицензионных и патентных ограничений.

В настоящей работе крысам Вистар было осуществлено моделирование 6-ГДА-индуцированного паркинсонического синдрома. Эта модель наиболее удобна для изучения потенциала НТ предшественников дофаминергических нейронов в хвостатые ядра мозга крыс. Известно, что НТ может вызывать временное ухудшение симптомов в раннем послеоперационном периоде [38], чем, по-видимому, объясняется снижение двигательной активности у крыс группы Т, выявленное через 3 нед после повторной операции. Позднее двигательная активность вернулась к дооперационному уровню. Сохранившийся уровень двигательной активности у крыс группы Т+С, вероятно, связан с противовоспалительным действием дексдомитора, использовавшегося для седации. В совокупности с НТ был проведён курс ТЭС постоянным током. Были показаны положительные эффекты ТЭС на двигательную активность и эмоциональное состояние экспериментальных животных группы Т+ТЭС. У крыс группы Т+С наблюдались признаки неврозоподобного состояния, как и у животных групп К2 и Т, что позволяет исключить вероятность эффекта дексдомитора на этот показатель. Тестирование поведения через 3 мес после НТ не выявило каких-либо различий между группами модельных крыс, что может свидетельствовать о краткосрочности эффектов ТЭС, проведённой в выбранном нами режиме.

Заключение

Проведение ТЭС у крыс-биомodelей БП с трансплантированными предшественниками дофаминергических нейронов с помощью разработанного специализированного лабораторного стимулятора хорошо переносилось животными.

Результаты физиологического и морфохимического исследований свидетельствуют о влиянии ТЭС на развитие и структуру трансплантата, а также на изменение моторных и немоторных симптомов у крыс после НТ.

Таким образом, сочетание НТ и ТЭС на моделях БП, в частности, на модели, индуцированной введением нейротоксина 6-ГДА в кЧС, демонстрирует потенциал для коррекции не только двигательных, но и недвигательных проявлений заболевания. Однако для успешной трансляции метода в клинику необходимы дальнейшая оптимизация протоколов трансплантации, транскраниальной стимуляции и оценка долгосрочной эффективности и безопасности.

Список источников / References

1. Ou Z., Pan J., Tang S. et al. Global trends in the incidence, prevalence, and years lived with disability of Parkinson's disease in 204 countries/territories from 1990 to 2019. *Front. Public Health*. 2021;9:776847. DOI: 10.3389/fpubh.2021.776847
2. Earls R.H., Meneses K.B., Chung J. et al. Intrastriatal injection of preformed alpha-synuclein fibrils alters central and peripheral immune cell profiles in non-transgenic mice. *J. Neuroinflammation*. 2019;16(1):250. DOI: 10.1186/s12974-019-1636-8
3. Araújo B., Caridade-Silva R., Soares-Guedes C. et al. Neuroinflammation and Parkinson's disease – from neurodegeneration to therapeutic opportunities. *Cells*. 2022;11(18):2908. DOI: 10.3390/cells11182908
4. MacMahon Copas A.N., McComish S.F., Fletcher J.M., Caldwell M.A. The pathogenesis of Parkinson's disease: a complex interplay between astrocytes, microglia, and T lymphocytes? *Front. Neurol*. 2021;12:666737. DOI: 10.3389/fneur.2021.666737
5. Puspiata L., Chung S. Y., Shim J.-W. Oxidative stress and cellular pathologies in Parkinson's disease. *Mol. Brain*. 2017;10(1):53. DOI: 10.1186/s13041-017-0340-9
6. Santiago R.M., Barbeiro J., Lima M.M.S. et al. Depressive-like behaviors alterations induced by intranigral MPTP, 6-OHDA, LPS and rotenone models of Parkinson's disease are predominantly associated with serotonin and dopamine. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2010;34(6):1104–1114. DOI: 10.1016/j.pnpb.2010.06.004
7. Milber J.M., Noorigian J.V., Morley J.F. et al. Lewy pathology is not the first sign of degeneration in vulnerable neurons in Parkinson disease. *Neurology*. 2012;79(24):2307–2314. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318278fe32
8. Pingale T., Gupta G.L. Classic and evolving animal models in Parkinson's disease. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2020;199:173060. DOI: 10.1016/j.pbb.2020.173060
9. Stavrovskaya A.V., Berezhnoy D.S., Voronkov D. N. et al. Classical model of 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats is characterized by unilateral lesion of brain mesolimbic system. *Neurochem. J.* 2020;14(3):303–309. DOI: 10.1134/S1819712420030101
10. Kim T.W., Koo S.Y., Studer L. Pluripotent stem cell therapies for Parkinson disease: present challenges and future opportunities. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020;8:729. DOI: 10.3389/fcell.2020.00729
11. Lebedeva O.S., Lagarkova M.A. Pluripotent stem cells for modelling and cell therapy of Parkinson's disease. *Biochemistry (Moscow)*. 2018;83(9):1046–1056. DOI: 10.1134/S0006297918090067
12. Voronkov D.N., Stavrovskaya A.V., Guschina A.S. et al. Morphological characterization of astrocytes in a xenograft of human iPSC-derived neural precursor cells. *Acta Naturae*. 2022;14(3):100–108. DOI: 10.32607/actanaturae.11710
13. Воронков Д.Н., Ставровская А.В., Лебедева О.С. и др. Морфологические изменения нейрональных предшественников, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека и трансплантированных в стриатум крыс с моделью болезни Паркинсона. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(2):43–50. Voronkov D.N., Stavrovskaya A.V., Lebedeva O.S. et al. Morphological changes in neural progenitors derived from human induced pluripotent stem cells and transplanted into the striatum of a Parkinson's disease rat model. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):43–50. DOI: 10.54101/ACEN.2023.2.6
14. Lefaucheur J.-P., Antal A., Ayache S.S. et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). *Clin. Neurophysiol.* 2017;128(1):56–92. DOI: 10.1016/j.clinph.2016.10.087
15. Broeder S., Nackaerts E., Heremans E. et al. Transcranial direct current stimulation in Parkinson's disease: neurophysiological mechanisms and behavioral effects. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015;57:105–117. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2015.08.010
16. Ni R., Yuan Y., Yang L. et al. Novel non-invasive transcranial electrical stimulation for Parkinson's disease. *Front. Aging Neurosci.* 2022;14:880897. DOI: 10.3389/fnagi.2022.880897
17. Paxinos G., Watson Ch. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego; 2006.
18. Holmqvist S., Lehtonen Š., Chumarina M. et al. Creation of a library of induced pluripotent stem cells from Parkinsonian patients. *NPJ Parkinsons Dis.* 2016;2:16009. DOI: 10.1038/npjparkd.2016.9
19. Matsumoto H., Ugawa Y. Adverse events of tDCS and tACS: a review. *Clin. Neurophysiol. Pract.* 2016;2:19–25. DOI: 10.1016/j.cnp.2016.12.003
20. Болотова В.Ц., Крауз В.А., Шустов Е.Б. Биологическая модель экспериментального невроза у лабораторных животных. *Биомедицина*. 2015;1(1):66–80.
21. Bolotova V.Ts., Krauz V.A., Shustov E.B. Biological model of experimental neurosis in laboratory animals. *Biomedicine*. 2015;1(1):66–80.
22. Sweis B.M., Bachour S.P., Brekke J.A. et al. A modified beam-walking apparatus for assessment of anxiety in a rodent model of blast traumatic brain injury. *Behav. Brain Res.* 2016;296:149–156. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.09.015
23. Bjorklund A., Stenevi U. Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res.* 1979;177(3):555–560. DOI: 10.1016/0006-8993(79)90472-4
24. Freed C.R., Greene P.E., Breeze R.E. et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 2001;344(10):710–719. DOI: 10.1056/NEJM200103083441002
25. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663–676. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024
26. Иллариошкин С.Н., Хаспеков Л.Г., Гривенников И.А. Моделирование болезни Паркинсона с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. М.; 2016.
27. Illarioshkin S.N., Khaspekov L.G., Grivennikov I.A. Modeling of Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells. Moscow; 2016.
28. Ставровская А.В., Новосадова Е.В., Ольшанский А.С. и др. Влияние геномного редактирования клеток на результаты нейротрансплантации при экспериментальном паркинсонизме. *Современные технологии в медицине*. 2017;9(4):7–14.
29. Stavrovskaya A.V., Novosadova E.V., Olshansky A.S. et al. Effect of cell genome editing on the outcome of neurotransplantation in experimental parkinsonism. *Modern Technologies in Medicine*. 2017;9(4):7–14. DOI: 10.17691/stm2017.9.4.01
30. Pellicciari M.C., Miniussi C. Transcranial direct current stimulation in neurodegenerative disorders. *J. ECT*. 2018;34(3):193–202. DOI: 10.1097/YCT.0000000000000539
31. Salehinejad M.A., Ghanavati E. Complexity of cathodal tDCS: relevance of stimulation repetition, interval, and intensity. *J. Physiol.* 2020;598(6):1127–1129. DOI: 10.1113/JP279409
32. Pedron S., Beverley J., Haffen E. et al. Transcranial direct current stimulation produces long-lasting attenuation of cocaine-induced behavioral responses and gene regulation in corticostriatal circuits. *Addict. Biol.* 2017;22(5):1267–1278. DOI: 10.1111/adb.12415
33. Jackson M.P., Rahman A., Lafon B. et al. Animal models of transcranial direct current stimulation: methods and mechanisms. *Clin. Neurophysiol.* 2016;127(11):3425–3454. DOI: 10.1016/j.clinph.2016.08.016
34. Liebetanz D., Koch R., Mayenfels S. et al. Safety limits of cathodal transcranial direct current stimulation in rats. *Clin. Neurophysiol.* 2009;120(6):1161–1167. DOI: 10.1016/j.clinph.2009.01.022
35. Feng X.J., Huang Y.T., Huang Y.Z. et al. Early transcranial direct current stimulation treatment exerts neuroprotective effects on 6-OHDA-induced Parkinsonism in rats. *Brain Stimul.* 2020;13(3):655–663. DOI: 10.1016/j.brs.2020.02.002
36. Monai H., Hirase H. Astrocytes as a target of transcranial direct current stimulation (tDCS) to treat depression. *Neurosci. Res.* 2018;126:15–21. DOI: 10.1016/j.neures.2017.08.012
37. Yamada Y., Sumiyoshi T. Neurobiological mechanisms of transcranial direct current stimulation for psychiatric disorders; neurophysiological, chemical, and anatomical considerations. *Front. Hum. Neurosci.* 2021;15:631838. DOI: 10.3389/fnhum.2021.631838
38. Ethridge V.T., Gargas N.M., Sonner M.J. et al. Effects of transcranial direct current stimulation on brain cytokine levels in rats. *Front. Neurosci.* 2022;16:1069484. DOI: 10.3389/fnins.2022.1069484
39. Yu T.H., Wu Y.J., Chien M.E. et al. Transcranial direct current stimulation induces hippocampal metaplasticity mediated by brain-derived neurotrophic factor. *Neuropharmacology*. 2019;144:358–367. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.11.012
40. Pedron S., Dumontoy S., Dimauro J. et al. Open-tES: an open-source stimulator for transcranial electrical stimulation designed for rodent research. *PLoS One*. 2020;15(7):e0236061. DOI: 10.1371/journal.pone.0236061
41. Иллариошкин С.Н. Нейротрансплантация: настало ли время? *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2018;12(5C):16–24.
42. Illarioshkin S.N. Neurotransplantation: has the time come? *Annals of clinical and experimental neurology*. 2018;12(5S):16–24. DOI: 10.25692/ACEN.2018.5.2

Информация об авторах

Ставровская Алла Вадимовна – в. н. с. лаб. экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии Института мозга Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8689-0934>
Воронков Дмитрий Николаевич – с. н. с. лаб. нейроморфологии Института мозга Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Потапов Иван Александрович – м. н. с. лаб. экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии Института мозга Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7471-3738>
Титов Даниил Сергеевич – аспирант МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3290-0367>

Ольшанский Артём Сергеевич – с. н. с. лаб. экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии Института мозга Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5696-8032>
Павлова Анастасия Кирилловна – лаборант-исследователь лаб. экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии Института мозга Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0006-5653-5524>

Лебедева Ольга Сергеевна – с. н. с. лаб. клеточной биологии ФКНЦ физико-химической медицины им. акад. Ю.М. Лопухина, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0767-5265>

Иллариошкин Сергей Николаевич – д. м. н. профессор, академик РАН, зам. директора Научного центра неврологии по научной работе, директор Института мозга Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2704-6282>

Вклад авторов: *Ставровская А.В.* – создание концепции исследования, анализ данных, проведение исследования, руководство научно-исследовательской работой; *Воронков Д.Н.* – создание концепции исследования, анализ данных, проведение исследования; *Потапов И.А.* – создание концепции исследования, курирование данных; *Титов Д.С.* – разработка методологии, создание моделей, курирование данных; *Ольшанский А.С.* – проведение исследования; *Павлова А.К.* – проведение исследования, анализ данных; *Лебедева О.С.* – создание концепции исследования, разработка методологии; *Иллариошкин С.Н.* – руководство научно-исследовательской работой.

Information about the authors

Alla V. Stavrovskaya – leading researcher, Head, Laboratory of experimental pathology of the nervous system and neuropharmacology, Brain Institute, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8689-0934>

Dmitry N. Voronkov – senior researcher, Laboratory of neuromorphology, Brain Institute, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Ivan A. Potapov – junior researcher, Laboratory of experimental pathology of the nervous system and neuropharmacology, Brain Institute, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7471-3738>

Daniil S. Titov – postgraduate student, Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3290-0367>

Artem S. Olshansky – senior researcher, Laboratory of experimental pathology of the nervous system and neuropharmacology, Brain Institute, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5696-8032>

Anastasiia K. Pavlova – laboratory research assistant, Laboratory of experimental pathology of the nervous system and neuropharmacology, Brain Institute, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0006-5653-5524>

Olga S. Lebedeva – senior researcher, Laboratory of cell biology, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical & Chemical Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0767-5265>

Sergey N. Illarioshkin – Dr. Sci. (Med.), Prof., RAS Full Member, Director, Brain Institute, Deputy Director, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2704-6282>

Authors' contribution: *Alla V. Stavrovskaya* – conceptualization, data analysis, conducting research, supervision; *Dmitry N. Voronkov* – conceptualization, data analysis, conducting research; *Ivan A. Potapov* – conceptualization, data curation; *Daniil S. Titov* – methodology, model creation, data curation; *Artem S. Olshansky* – conducting research; *Anastasiia K. Pavlova* – conducting research, data analysis; *Olga S. Lebedeva* – conceptualization, methodology; *Sergey N. Illarioshkin* – supervision.