Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова
2020, т. 120, № 9, вып. 2, с. 22-25
https://doi.org/10.17116/jnevro202012009222

S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry
2020, vol. 120, no 9, issue 2, pp. 22-25
https://doi.org/10.17116/jnevro202012009222

D-лактат — новый сомногенный фактор?

© В.М. КОВАЛЬЗОН[1,2], Ю.В. ПАНЧИН[2,3]

[1]ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова» РАН, Москва, Россия;
[2]ФГБУН «Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича» РАН, Москва, Россия;
[3]Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Оценить влияние изменения концентрации мозгового лактата на цикл бодрствование—сон.

Материал и методы. Исследование проведено на 20 взрослых самцах белых крыс с предварительно вживленными (под общим наркозом) электродами для записи ЭЭГ неокортекса, а также канюлями (по одной) в боковом желудочке головного мозга. Животным вводили через канюлю контрольный физиологический раствор (5 мкл), а затем с интервалом 2 сут 0,1 мг (200 mM) Na-соли *L*- или *D*-лактата («Sigma-Aldrich», США) в 5 мкл физиологического раствора, после чего осуществляли 6-часовую регистрацию.

Результаты и заключение. Установлено, что введение *L*-лактата не оказывает влияния на цикл бодрствование—сон подопытных животных, в то время как его оптический аналог *D*-лактат, в природе не встречающийся, вызывает достоверное (по сравнению с контролем) сокращение суммарной продолжительности бодрствования в записи (с 34,8 до 26,5%) и увеличение медленного сна (с 57,4 до 69,2%). Предполагается, что *D*-лактат в представленной экспериментальной модели может выступать в роли антагониста одного или нескольких рецепторов *L*-лактата.

Ключевые слова: *бодрствование—сон, лактат.*

Информация об авторах:
Ковальзон В.М. — https://orcid.org/0000-0002-0941-2242; e-mail: kovalzon@sevin.ru
Панчин Ю.В. — https://orcid.org/0000-0002-8006-2839
Автор, ответственный за переписку: Ковальзон Владимир Матвеевич — e-mail: kovalzon@sevin.ru

Как цитировать:
Ковальзон В.М., Панчин Ю.В. *D*-лактат — новый сомногенный фактор? *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(9 вып. 2):22–25. https://doi.org/10.17116/jnevro202012009222

D-lactate as a novel somnogenic factor?

© V.M. KOVALZON[1,2], YU.V. PANCHIN[2,3]

[1]Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;
[2]Kharkhevich Institute of Information Transmission of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;
[3]Belozerskiy Institute of Physical-Chemical Biology of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract

Objective. To evaluate an influence of intracerebral L-lactate concentration on sleep-wake cycle.

Material and methods. Twenty adult male white rats preliminary implanted (under general anesthesia) with the electrodes for neocortical EEG and a single cannula to a lateral ventricle were used as subjects. A 5 μl bolus of either saline or a solution of sodium *L*- or *D*-lactate (0.1 mg, 0.2 M, *Sigma-Aldrich*) was injected through the cannula and followed by a 6-hr recording.

Results and Conclusion. Administration of *L*-lactate does not influence sleep-wake cycle of experimental animals. At the same time, its artificial optical analog *D*-lactate induces the significant (as compared to the control) decrease in wake (34.8% to 26.5%) and increase in slow wave sleep (57.4% to 69.2%). It has been suggested that *D*-lactate may be the antagonist of one or several *L*-lactate receptors.

Key words*: sleep-wake, lactate.*

Information about the authors:
Kovalzon V.M. — https://orcid.org/0000-0002-0941-2242; e-mail: kovalzon@sevin.ru
Panchin Yu.V. — https://orcid.org/0000-0002-8006-2839
Corresponding author: Kovalzon V.M. — e-mail: kovalzon@sevin.ru

To cite this article:
Kovalzon VM, Panchin YuV. *D*-lactate as a novel somnogenic factor? *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2020;120(9 vyp 2):22–25. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/jnevro202012009222

Исследования последних лет показали, что лактат наряду с глюкозой является основным источником энергии для нейронов не только в условиях гипоксии, но и в норме [1—3]. Согласно «лактат-челночной» (lactate-shuttle) гипотезе, превращение глюкозы в лактат происходит в глиальных клетках — астроцитах, которые и снабжают им нейроны [4, 5]. Кроме того, как и молекула АТФ, молекула лактата выполняет не только трофическую, но и сигнальную функцию, связываясь с несколькими рецепторами в ЦНС [3, 6—10]. При этом молекула искусственного оптического изомера *L*-лактата — *D*-лактата — может выступать в качестве антагониста некоторых из этих рецепторов [3, 10]. Сигнальный путь лактата может играть важную роль в ряде мозговых процессов [10—12]. Нарушение этого сигнального пути и/или оборота лактата в головном мозге может быть одной из причин целого ряда патологических явлений [1, 13]. Так, повышенный уровень лактата может участвовать в формировании некоторых видов инсомнии [14]. Уровень лактата в головном мозге находится в тесной связи с состоянием организма в цикле бодрствование—сон [1, 13, 15—17]. Показано, что концентрация лактата в межклеточной среде головного мозга мышей возрастает в бодрствовании и в фазу быстрого сна и снижается при медленном сне [15, 18—21].

Была поставлена цель — проверить, возможно ли обратное влияние изменения концентрации мозгового лактата на цикл бодрствование—сон. В соответствии с рабочей гипотезой кратковременное резкое повышение концентрации внутримозгового *L*-лактата должно приводить к подавлению медленного сна и увеличению представленности бодрствования и быстрого сна в последующие несколько часов. Введение *D*-лактата должно подавлять бодрствование и быстрый сон и увеличивать медленный сон.

Материал и методы

В процессе исследования 20 взрослых самцов белых крыс были прооперированы под общим наркозом (золетил, 35 мг/кг, внутримышечно). Животным вживляли эпидуральные электроды для регистрации лобно-теменных отведений электрокортикограммы (ЭКоГ). Поскольку лактат не проходит гематоэнцефалический барьер, животным вживляли также канюли (по одной) в боковой желудочек головного мозга. Электроды представляли собой миниатюрные винтики из нержавеющей стали. Каждому животному вживляли 5 электродов — по 2 в лобную и теменную кору и 1 референтный электрод в носовую кость. После операции животных помещали в индивидуальные звукоизолированные боксы при постоянном световом режиме 12/12 (09:00—21:00 — яркий (150 лк) белый свет, 21:00—09:00 — слабый (15 лк) красный) и температуре 22—24 °С. Вода и пища были доступны постоянно.

По истечении недельного периода восстановления каждому животному поочередно (с интервалом не менее 2 сут) вводили через канюлю (внутрижелудочково) физиологический раствор (5 мкл) (контроль), а затем 0,1 мг (200 mM) Na-соли *L*- или *D*-лактата («Sigma-Aldrich», США) в 5 мкл физиологического раствора. Это примерно в 4 раза превышает естественную концентрацию *L*-лактата в пересчете на суммарный объем внеклеточной жидкости мозга крысы [10, 18]. Для введения животного извлекали из экспериментальной камеры, мягко фиксировали, канюлю открывали и подсоединяли к гибкой пластиковой трубочке. Введение осуществляли с помощью микрошприца. Каждое введение продолжалось не менее 3 мин. Затем животное вновь помещали в его камеру и подключали к отводящему кабелю. Каждому животному выполняли только 2 введения: одно контрольное и одно либо с *L*-, либо с *D*-лактатом.

Для проверки точности локализации кончика канюли в боковом желудочке каждому животному по окончании экспериментов был проведен ангиотензиновый тест [22]. Для этого животному вводили через канюли по 0,5 мкг пептида ангиотензин-2 в 5 мкл физиологического раствора. В случае проникновения вводимого раствора через монроево отверстие, соединяющее боковой желудочек с третьим, через несколько минут после введения наблюдается ярко выраженная питьевая реакция. Для окончательного анализа были отобраны 20 крыс, которые прошли этот тест.

Сразу после введения, в 15:00, начинали непрерывную 6-часовую регистрацию полисомнограммы (ПСГ), включающей 2 канала электроэнцефалограммы (ЭЭГ) и запись механограммы (двигательной активности), а также видеорегистрацию поведения животных. Каждое животное было подсоединено посредством гибкого кабеля к входу 2-канального миниатюрного автономного цифрового телеметрического усилителя биопотенциалов размером 30×25×4 мм и массой 5 г, конструкции А.А. Трощенко[1], снабженного 3-мерным акселерометром. Плата усилителя была соединена эластичной связью с источником питания и вместе с ним подвешена к штанге над камерой посредством миниатюрного вращающегося карабина. Такая конструкция дает возможность регистрировать ПСГ, не ограничивая свободу перемещений животного, и позволяет плате усилителя биопотенциалов со встроенным акселерометром свободно колебаться в трех плоскостях и реагировать даже на небольшие движения крысы. ЭЭГ регистрировали с частотой дискретизации 250 Гц, а двигательную активность — с частотой 50 Гц. Сигналы усилителя передавались на регистрирующий компьютер по каналу blue tooth. Проводили визуальный анализ полученных ПСГ по 20-секундным эпохам с помощью специальной программы, созданной на базе браузера EDF с открытым кодом [23]. По общепринятым критериям для грызунов выделяли состояния бодрствования, медленного и быстрого сна.

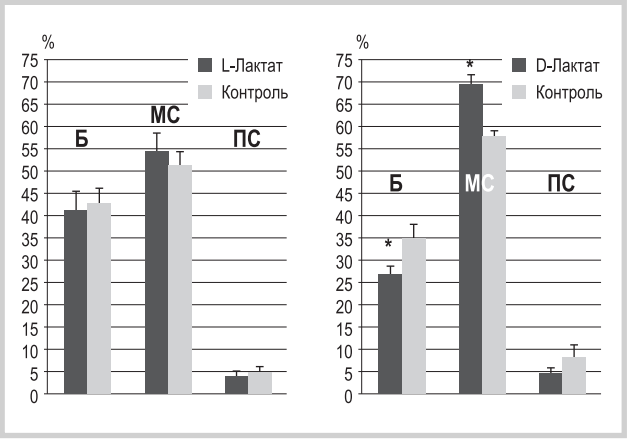
Протокол исследования был поддержан этической комиссией ИПЭЭ РАН.

Статистический анализ проводили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона (*T*-test).

Результаты

Однократное введение в боковой желудочек мозга 5 мкл 0,2-молярного раствора *L*-лактата 10 крысам не оказывало никакого эффекта на цикл бодрствование—сон в последующие 6 ч светлого периода суток по сравнению с контрольным ведением физиологического раствора тем же животным **(см. рисунок)**. Аналогичное введение *D*-лактата другим 10 крысам вызывало достоверное снижение процентной представленности (суммарной длительности) бодрствования по сравнению с контролем (с 34,8 до 26,5%, или со 125 до 95 мин) за 6-часовый период записи ($p<0,01$; *T*-test Вилкоксона). Соответственно происходило повышение процентной представленности мед-

[1]http://biorecorder.com/ru/br8v1.html



Изменение структуры цикла бодрствование—сон у белых крыс в первые 6 ч после введения *L*- (слева, *n*=10) и *D*-(справа, *n*=10) лактата по сравнению с контрольными введениями 5 мкл физиологического раствора.
По оси абсцисс — состояния бодрствования (Б), медленного (МС) и быстрого (ПС) сна; по оси ординат — проценты от времени записи (100%=6 ч). * — $p<0,01$ по сравнению с контролем (*T*-критерий Вилкоксона).

Changes in the structure of the wake-sleep cycle in white rats during the first 6 hours after the administration of L- (left, *n*=10) and D-lactate (right, *n*=10) compared to control administration of 5 μl saline.
On the abscissa axis — wakefulness (Б), slow wave (МС) and REM (ПС) sleep; on the ordinate axis — percent of the recording time (100%=6 hours). * — $p<0.01$ compared to control (Wilcoxon test).

ленного сна (с 57,4 до 69,2%, или с 207 до 249 мин; $p<0,01$). Что касается быстрого сна, то его представленность также снижалась после введения *D*-лактата (с 7,7 до 4,2%, или с 28 до 15 мин), однако это снижение не достигало достоверных значений.

Обсуждение

Таким образом, оказалось, что искусственный оптический аналог *D*-лактат, в природе не встречающийся, способен при однократном введении непосредственно в желудочки головного мозга увеличивать процентную представленность медленного сна (по сравнению с контролем) в течение последующих нескольких часов. Если учесть, что введение проводили в дневное время, когда представленность сна у крыс и так высока, то выявленный эффект (увеличение суммарной продолжительности медленного сна за 6 ч примерно на 40 мин) можно признать значительным. У натурального *L*-лактата наблюдалось полное отсутствие эффекта. Причина этого остается неизвестной, но можно предположить, что его уровень в межклеточной жидкости головного мозга исходно настолько велик, что добавленная доза препарата не может его существенно изменить.

Увеличение сна после введения *D*-лактата можно объяснить блокированием рецепторов *L*-лактата. Таким образом, в сомнологических экспериментах подтвердилось, что *D*-лактат может играть роль антагониста одного или нескольких рецепторов его естественного оптического аналога. Вопрос, о каком именно рецепторе (рецепторах) может идти речь (HCA1, OR51E2, GPR4 или каком-то ином), требует проведения дополнительных исследований.

Выявление сомногенных свойств у *D*-лактата представляет определенный интерес и с фармакологической точки зрения, поскольку эта простая молекула могла бы послужить основой для создания нового снотворного препарата. Однако для этого нужно добиться, чтобы молекула *D*-лактата оказалась способной проникать через гематоэнцефалический барьер. Необходимо отметить, что современная фармакохимия знает разные способы решения этой проблемы (структурные модификации лекарственной молекулы с целью повышения ее липофильности без потери основной активности, помещение лекарственной молекулы в жировую нанокапсулу и пр.), так что она не представляется непреодолимой.

Заключение

Искусственный оптический аналог *L*-лактата — *D*-лактат — способен при однократном введении в боковой желудочек головного мозга крыс подавлять бодрствование и увеличивать медленный сон в последующие 6 ч светлого времени суток. Этот эффект, по-видимому, опосредуется одним (или несколькими) из рецепторов *L*-лактата, по отношению к которым *D*-лактат выступает в качестве антагониста.

Работа поддержана грантом РНФ (проект №17-15-01433).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Aalling NN, Nedergaard M, DiNuzzo M. Cerebral Metabolic Changes During Sleep. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2018;18:57. https://doi.org/10.1007/s11910-018-0868-9
2. Lundgaard I, Lu ML, Yang E, Peng W, Mestre H, Hitomi E, Deane R, Nedergaard M. Glymphatic Clearance Controls State-Dependent Changes in Brain Lactate Concentration. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2017;37:2112-2124. https://doi.org/10.1177/0271678x16661202 https://search.crossref.org/?q=Lactate+Receptor+Sites+Link+Neurotransmission%2C+Neurovascular+Coupling%2C+and+Brain+Energy+Metabolism
3. Tang F, Lane S, Korsak A, Paton J, Gourine A, Kasparov S, Teschemacher A. Lactate-Mediated Glia-Neuronal Signalling in the Mammalian Bain. *Nature Communications*. 2014;5(1):3284. https://doi.org/10.1038/ncomms4284
4. Pellerin L, Pellegri G, Bittar PG, Charnay Y, Bouras C, Martin J-L, Stella N, Magistretti PJ. Evidence Supporting the Existence of an Activity-Dependent Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle. *Developmental Neuroscience*. 1998;20:291-299. https://doi.org/10.1159/000017324
5. лактата Teschemacher AG, Kasparov S. *Dialogue Between Astrocytes and Noradrenergic Neurons Via L-Lactate. Noradrenergic Signaling and Astroglia*. Ed. By Vardjan N, Zorec R. Amsterdam: Elsevier; 2017. https://search.crossref.org/?q=Evidence+Supporting+the+Existence+of+an+Activity-Dependent+Astrocyte-Neuron+Lactate+Shuttle https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805088-0.00008-6
6. Bozzo L, Puyal J, Chatton J-Y. Lactate Modulates the Activity of Primary Cortical Neurons through a Receptor-Mediated Pathway. *PLoS ONE*. 2013;8(8):e71721. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071721

7. Lauritzen KH, Morland C, Puchades M, Holm-Hansen S, Hagelin EM, Lauritzen F, Attramadal H, Storm-Mathisen J, Gjedde A, Bergersen LH. Lactate Receptor Sites Link Neurotransmission, Neurovascular Coupling, and Brain Energy Metabolism. *Cerebral Cortex*. 2014;24:2784-2795. https://doi.org/10.1093/cercor/bht136
8. Magistretti PJ, Allaman I. Lactate in the Brain: from Metabolic End-Product to Signalling Molecule. *Nature Reviews Neuroscience.* 2018;19:235-249. https://doi.org/10.1038/nrn.2018.19
9. Morland C, Lauritzen KH, Puchades M, Holm-Hansen S, Andersson K, Gjedde A, Attramadal H, Storm-Mathisen J, Bergersen LH. The Lactate Receptor, G-Protein-Coupled Receptor 81/Hydroxycarboxylic Acid Receptor 1: Expression and Action in Brain. *Journal of Neuroscience Research*. 2015;93:1045-1055. https://doi.org/10.1002/jnr.23593
10. Mosienko V, Rasooli-Nejad S, Kishi K, De Both M, Jane D, Huentelman M, Kasparov S, Teschemacher A. Putative Receptors Underpinning L-Lactate Signalling in Locus Coeruleus. *Neuroglia*. 2018;1(2):365-380. https://doi.org/10.3390/neuroglia1020025
11. Clegern WC, Moore ME, Schmidt MA, Wisor J. Simultaneous Electroencephalography, Real-time Measurement of Lactate Concentration and Optogenetic Manipulation of Neuronal Activity in the Rodent Cerebral Cortex. *Journal of Visualized Experiments*. 2012;70:e4328. https://doi.org/10.3791/4328
12. Grønli J, Rempe MJ, Clegern WC, Schmidt M, Wisor JP. Beta EEG Reflects Sensory Processing in Active Wakefulness and Homeostatic Sleep Drive in Quiet Wakefulness. *Journal of Sleep Research*. 2016;25:257-268. https://doi.org/10.1111/jsr.12380
13. DiNuzzo M, Nedergaar M. Brain Energetics During the Sleep-Wake Cycle. *Current Opinion in Neurobiology*. 2017;47:65-72. https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.09.010
14. Wei Q, Ta G, He W, Wang W, Wu Q. Stilbene Glucoside, a Putative Sleep Promoting Constituent from Polygonum multiflorum Affects Sleep Homeostasis by Affecting the Activities of Lactate Dehydrogenase and Salivary Alpha Amylase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2017;65(11):1011-1019. https://doi.org/10.1248/cpb.c17-00275
15. Dash MB, Tononi G, Cirelli C. Extracellular Levels of Lactate, but not Oxygen, Reflect Sleep Homeostasis in the Rat Cerebral Cortex. *Sleep*. 2012;35(7):909-919. https://doi.org/10.5665/sleep.1950
16. Haydon PG. Astrocytes and the modulation of sleep. *Current Opinion in Neurobiology*. 2017;44:28-33. https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.02.008
17. Petit J-M, Magistretti PJ. Regulation of Neuron—Astrocyte Metabolic Coupling Across the Sleep-Wake Cycle. *Neuroscience*. 2016;323:135-156. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.007
18. Naylor E, Aillon DV, Barrett BS, Wilson GS, Johnson DA, Johnson DA, Harmon HP, Gabbert S, Petillo PA. Lactate as a Biomarker for Sleep. *Sleep*. 2012;35(9):1209-1222. https://doi.org/10.5665/sleep.2072
19. Petit J-M, Gyger J, Burlet-Godinot S, Fiumelli H, Martin JL, Magistretti PJ. Genes Involved in the Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle (ANLS) are Specifially Regulated in Cortical Astrocytes Following Sleep Deprivation in Mice. *Sleep*. 2013;36(10):1445-1458. https://doi.org/10.5665/sleep.3034
20. Rempe MJ, Wisor JP. Cerebral Lactate Dynamics Across Sleep/Wake Cycles. *Frontiers in Computational Neuroscience*. 2014;8:174. https://doi.org/10.3389/fncom.2014.00174
21. Shram N, Netchiporouk L, Cespuglio R. Lactate in the Brain of the Freely Moving Rat: Voltammetric Monitoring of the Changes Related to the Sleep-wake States. *European Journal of Neuroscience*. 2002;16:461-466. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02081.x
22. Obál F Jr, Kovalzon VM, Kalikhevich VN, Torok A, Alfoldi P, Sary G, Hajos M, Penke B. Structure-Activity Relationship in the Effects of Delta-Sleep-Inducing Peptide (DSIP) on Rat Sleep. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1986;24(4):889-894. https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90432-6 https://search.crossref.org/?q=Lactate+in+the+Brain+of+the+Freely+Moving+Rat%3A+Voltammetric+Monitoring+of+the+Changes+Related+to+the+Sleepwake+States
23. Manolov AI, Koval'zon VM, Ukraintseva YuV, Moiseenko LS, Dorokhov VB. Dependence of the Accuracy of Automatic Identification of Sleep and Waking States in Mice on the Spectral Characteristics of the Electroencephalogram. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2017;47(1):97-101. https://doi.org/10.1007/s11055-016-0369-8

Поступила 02.03.2020
Received 02.03.2020
Принята к печати 20.03.2020
Accepted 20.03.2020