

# Эффекты транскраниальной электростимуляции при экспериментальном ишемическом инсульте и черепно-мозговой травме

С.А. Занин, А.Х. Каде, А.И. Трофименко, Е.Е. Байкова, В.В. Оноприев

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (Краснодар, Россия)

**Цель исследования.** Оценка влияния транскраниальной электростимуляции эндорфинных механизмов мозга (ТЭС-терапии) на опиоидергические системы в условиях моделирования ишемического инсульта у лабораторных крыс и у пациентов с черепно-мозговой травмой (ЧМТ).

**Материалы и методы.** Исследован уровень  $\beta$ -эндорфина в плазме крови в динамике на 1, 3, 7 и 14 сутки в плазме крови у крыс с экспериментальным ишемическим инсультом и у пациентов с ЧМТ на фоне проведения ТЭС-терапии и без нее.

**Результаты.** Содержание  $\beta$ -эндорфина в плазме крови стойко снижается в сравнении с контролем на протяжении с 1 по 14 сутки наблюдения в группах без использования ТЭС-терапии. Проведение ТЭС-терапии, начиная с первых суток экспериментального ишемического инсульта у крыс, способствует стойкому росту и стабилизации концентрации  $\beta$ -эндорфина в течение всего периода наблюдения с 1 по 14 сутки на уровне, превышающем контрольный. У пациентов с ЧМТ средней и тяжелой степени тяжести уровень  $\beta$ -эндорфина в течение всего периода наблюдения с 1 по 14 сутки оставался стойко сниженным на фоне проведения стандартной терапии. При применении ТЭС-терапии концентрация  $\beta$ -эндорфина была в 1,39 раз выше в сравнении с группой пациентов, получавших только стандартное лечение.

**Обсуждение.** Целесообразно проведение дальнейших исследований по влиянию ТЭС-терапии на течение и исход ишемического инсульта и ЧМТ, существует потенциальная возможность включения ТЭС-терапии в стандарты оказания помощи у больных в острую стадию ишемического инсульта и у пациентов с ЧМТ.

**Ключевые слова:** ишемический инсульт, черепно-мозговая травма, ТЭС-терапия,  $\beta$ -эндорфин, опиоидные пептиды, крыса.

## Введение

Ишемический инсульт (ИИ) и черепно-мозговая травма (ЧМТ) являются важнейшими проблемами современной медицины, что обусловлено высокой заболеваемостью, большим процентом инвалидизации и смертности при данных видах патологии [3]. Одним из наиболее динамично развивающихся видов лечения ИИ и ЧМТ является нейропротекторная терапия, направленная на повышение выживаемости клеток мозга в условиях патологии [4]. Однако на сегодняшний день большинство имеющихся нейропротекторных препаратов, испытанных в мультицентровых рандомизированных клинических исследованиях, оказались недостаточно эффективны [18]. Поэтому разработка новых подходов в нейропротекторной терапии при ИИ и ЧМТ, в т.ч. направленных на активацию собственных адаптационно-компенсаторных реакций, является актуальной задачей медицины.

Рассматривая патогенез заболеваний, обусловленных ишемическим или травматическим поражением ЦНС, с позиции стрессового повреждения органа, ключевое значение приобретают данные о протекторном эффекте стресс-лимитирующих систем (СЛС), центральное место среди которых занимает эндогенная опиоидергическая система [9].

Известно, что в ходе течения ИИ содержание  $\beta$ -эндорфина – важнейшего представителя семейства опиоидных пеп-

тидов, который является агонистом  $\mu$ - и  $\delta$ -классических опиоидных рецепторов – претерпевает значительные изменения [1, 17]. Интересны данные, показывающие нейропротекторный эффект активации  $\delta$ -опиоидных рецепторов [15, 19, 20].

До настоящего времени механизмы нейропротекторного эффекта  $\beta$ -эндорфина до конца не изучены. Известно его влияние на течение процессов свободно-радикального окисления и асептического воспаления, а также обусловленный воздействием на АТФ-зависимые калиевые каналы запуск феномена ишемического преколонирования [8, 10, 12, 14].

Транскраниальная электростимуляция эндорфинных механизмов мозга (ТЭС-терапия) представляет собой воздействие электрическим током на головной мозг через покровы черепа, приводящее к избирательной активации структур, относящихся к антиноцицептивной системе (АНС) ствола мозга, с последующим выделением опиоидных пептидов. Особенностью используемого метода ТЭС-терапии является режим электростимуляции: частота непрерывных импульсов или пачек высокочастотных импульсов  $77 \pm 0,5$  Гц, длительность импульса  $3,75 \pm 0,25$  мс при соотношении постоянного и среднеимпульсного тока 2:1–5:1. Указанный режим электростимуляции, а также фронто-мастоидальное расположение электродов являются строго специфическими

для развития анальгетического эффекта, при отклонении от данных параметров  $\beta$ -эндорфин выделяется незначительно [6, 7, 16].

Учитывая вышеизложенное, целью настоящего исследования явилась оценка влияния ТЭС-терапии на опиоидергическое звено СЛС в условиях моделирования ИИ у лабораторных крыс и у пациентов с ЧМТ.

## Материалы и методы

Эксперименты проведены на 30 белых нелинейных крысах-самцах средней массой  $252 \pm 25$  г. Содержание животных и постановка экспериментов проводились в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 11.10.1983 г. и № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 г., а также Международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Операции выполнялись под общим зоветилксилезиновым наркозом [13]. Моделирование ИИ выполнялось путем коагуляции правой средней мозговой артерии (ПСМА) [13]. Животные были разделены на 3 группы:

- группа 1 (контрольная) (n=10) – крысы, которым не выполнялась операция;
- группа 2 (n=10) – крысы с моделью ишемического инсульта;
- группа 3 (n=10) – крысы с экспериментальным ИИ, которым в течение 1 часа после воспроизведения модели патологии проводился первый сеанс ТЭС-терапии; после этого проводилось еще 6 сеансов с частотой 1 раз в сутки ежедневно.

Забор крови с последующей оценкой уровня  $\beta$ -эндорфина в группе 1 проводился одномоментно, а в группах 2 и 3 проводили на 1, 3, 7 и 14 сутки. Содержание  $\beta$ -эндорфина в плазме крови исследуемых животных проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) Отдела клинической экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии ГБОУ ВПО КубГМУ МЗ РФ.

Экспериментальным животным ТЭС-терапия проводилась модифицированным двухпрограммным электростимулятором «ТРАНСАИР-03» (Санкт-Петербург, Россия) в анальгетическом режиме, применялось фронтотемпальное расположение двоярных иглообразных электродов. Длительность сеанса во всех случаях составляла 45 мин.

Параметры транскраниальной электростимуляции для крыс представлены в табл. 1.

Исследованы 50 пациентов с ЧМТ средней и тяжелой степени тяжести, находившихся на стационарном лечении в нейрореанимационном отделении НИИ ГБУЗ «ККБ № 1 им. С.В. Очаповского» г. Краснодара. Критерии включения пациентов в исследование: возраст пациентов – от 31 до 52 лет, отсутствие в анамнезе судорожных состояний, арит-

таблица 1: Параметры электрического тока, использованного при проведении ТЭС-терапии в режиме анальгезии у крыс.

Частота, Гц	Длительность импульса, мс	Величина суммарного тока, мА
70 $\pm$ 2	3,75 $\pm$ 0,25	0,6-2,5

мий, эпилепсии, тиреотоксикоза и добровольное согласие на участие в исследовании. Все пациенты с использованием метода случайной рандомизации в виде простой случайной выборки разделены на две группы. Группа 1 (n=25) – больные с ЧМТ, получающие стандартное лечение согласно протоколу ведения больных с ЧМТ; группа 2 (n=25) – пациенты с ЧМТ, получающие стандартное лечение согласно протоколу и ТЭС-терапии.

ТЭС-терапия пациентам проводилась в анальгетическом режиме с использованием двухпрограммного электростимулятора «ТРАНСАИР-03» (ООО «Центр транскраниальной электростимуляции», Санкт-Петербург) в течение 7 сут, продолжительность сеанса – 45 мин, использовалось фронтотемпальное расположение двоярных накожных электродов, стимуляция начиналась с 1-го дня нахождения в стационаре.

Также проводилось исследование концентрации  $\beta$ -эндорфина у здоровых волонтеров (n=10). Критерии отбора здоровых волонтеров: добровольное информированное согласие на участие в исследовании, возраст добровольцев от 30 до 50 лет, отсутствие в анамнезе онкопатологии, воспалительных и инфекционных болезней, а также сосудистой и эндокринной патологии.

Количественное определение уровня  $\beta$ -эндорфина в плазме крови проводили иммуноферментным методом с помощью набора «Elabscience Biotechnology Co., Ltd» (Китай). Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами непараметрической статистики с помощью программы «Statistica version 6». Данные исследования представлены в виде M (средних значений) и m (стандартной ошибки среднего). Сравнение групп 1 и 2 на 1, 3, 7 и 14 сутки, групп 1 и 3 – на 1, 3, 7 и 14 сутки, а также между собой групп 2 и 3 на 1, 3, 7 и 14 сутки проведено с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни, с установлением критического уровня значимости  $*p \leq 0,05$ .

## Результаты исследований и их обсуждение

Анализ содержания  $\beta$ -эндорфина в плазме крови животных исследуемых групп (табл. 2) показал, что в группе 1 (контрольной) его уровень составил  $27,52 \pm 12,14$  пг/мл. В группе 2, на 1-е сут после моделирования ИИ, его содержание составило  $13,25 \pm 9,81$  пг/мл, что значимо ниже ( $p=0,005$ ) в сравнении с группой 1 и свидетельствует о снижении активности основного звена СЛС – опиоидергического. На 3-и сут после моделирования ИИ наблюдалось значимое ( $p=0,009$ ) в сравнении с 1-ми сутками снижение уровня  $\beta$ -эндорфина – до  $11,01 \pm 5,94$  пг/мл.

На 7 и 14 сутки в сравнении с 1-ми сутками наблюдалось значимое ( $p \leq 0,05$ ) снижение его содержания до  $9,04 \pm 4,00$  ( $p=0,005$ ) и  $9,63 \pm 3,02$  пг/мл ( $p=0,028$ ) соответственно, при этом значимых ( $p=0,444$ ) различий в концентрации  $\beta$ -эндорфина между 7 и 14 сут не наблюдалось. То есть в течение всего периода наблюдения с 1 по 14 сут в группе 2 с моделированным ИИ уровень  $\beta$ -эндорфина был значительно ( $p=0,005$ ) ниже в сравнении с группой 1 (контрольной). Это указывает на устойчивое угнетение активности опиоидергической СЛС при экспериментальном ИИ.

В группе 3 животных с моделированием ИИ и проведением после этого 7 сеансов ТЭС-терапии (стимуляция начата с 1-х сут моделирования ИИ), отмечена следующая дина-

таблица 2: Динамика содержания β-эндорфина в исследуемых группах животных.

Группа 1 (контроль), пг/мл (n=10)	Сутки	Группа 2 пг/мл (n=10)	Группа 3 пг/мл (n=10)
27,52±12,14	1	13,25±9,81*	48,68±15,28* <sup>v</sup>
	3	11,01±5,94*	42,42±11,59* <sup>v</sup>
	7	9,04±4,00*	42,64±9,29* <sup>v</sup>
	14	9,63±3,02*	42,21±9,93* <sup>v</sup>

Примечание: \* $p \leq 0,05$  – достоверно по отношению к группе 1 (контроль), <sup>v</sup> $p \leq 0,05$  – достоверно по отношению к 2 группе.

мика уровня β-эндорфина. В 1-е сут его уровень составлял 48,68±15,28 пг/мл, что было значительно ( $p=0,005$ ) выше (в 1,8 раза) по отношению к его содержанию у крыс группы 1 (контрольной) и отражал явление активации опиоидергической системы под влиянием электростимуляции. При этом на 1-е сут после моделирования инсульта при сравнении содержания β-эндорфина в группах 2 и 3 его уровень в группе 2 был ниже в 3,7 раза ( $p=0,005$ ). Обращает на себя внимание следующая особенность: на 3, 7 и 14 сут уровень β-эндорфина значимо в сравнении с 1 сут не менялся, оставаясь стабильно на более высоком уровне в сравнении с крысами группы 2 и группы 1 (контрольная), что свидетельствует об устойчивой гиперактивации опиоидергической стресс-лимитирующей системы и последствии анальгетического эффекта ТЭС-терапии (сеансы стимуляции длились с 1 по 7 сут инсульта, а повышение содержание β-эндорфина наблюдалось в течение всего периода исследования – с 1 по 14 сут включительно).

У пациентов, получавших стандартное лечение ЧМТ по протоколу, уровень β-эндорфина при поступлении в стационар составил 4,11±1,49 пг/мл, что было значительно ниже по сравнению с контролем (здоровые волонтеры – 7,22±1,75 пг/мл,  $p=0,005$ ). На 8-е сут терапии по протоколу (при выписке из стационара) уровень β-эндорфина стал значительно ( $p=0,005$ ) ниже по отношению к 1-м сут и составил 2,38±0,84 пг/мл (рис. 1).

Снижение уровня β-эндорфина в течение всего периода наблюдения свидетельствует о стойком угнетении опиоидергической СЛС при травматическом повреждении головного мозга.

У пациентов группы 2 в 1 сут (при поступлении в стационар) содержание β-эндорфина в плазме крови было 4,21±1,44 пг/мл, что значительно не отличалось от его концентрации в тот же срок в сравнении с пациентами группы 1

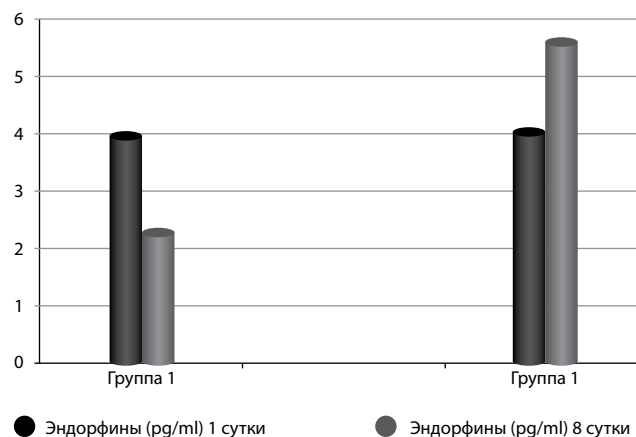


рис. 1: Уровень β-эндорфина у пациентов с ЧМТ 1 и 2 групп.

( $p=0,111$ ). Но на 8 сут, после проведения ТЭС-терапии, уровень β-эндорфина был в 1,39 раз выше, чем его содержание в 1 сут и составил 5,84±1,23 пг/мл ( $p=0,005$ ). Однако в сравнении со здоровыми волонтерами его содержание было в 1,2 раза ниже ( $p=0,005$ ). Данные наблюдения свидетельствуют об активирующем влиянии ТЭС-терапии на активность опиоидергической СЛС при ЧМТ.

## Обсуждение

Таким образом, для двух нозологических единиц (ИИ и ЧМТ), в патогенезе которых имеет место острое повреждение головного мозга, характерно стойкой снижением активности опиоидергического звена СЛС в виде гипонорфинемии. Проведение ТЭС-терапии после моделирования ИИ и у пациентов с ЧМТ приводит к выраженному повышению содержания β-эндорфина в плазме крови, что свидетельствует об активации опиоидергического звена СЛС, так как, по данным литературы, известно, что концентрация β-эндорфина в крови, ликворе и ткани головного мозга имеют прямо пропорциональную зависимость между собой [1]. Повышение содержания β-эндорфина при экспериментальном ИИ, по данным литературы, сопровождается уменьшением прироста удельного объема инфаркта мозга к 3-им сут после развития патологии, а при ЧМТ проявляется клинически в виде улучшения самочувствия пациентов. Имеются указания на снижение реакции системного воспалительного ответа в виде нормализации концентрации провоспалительных цитокинов при применении ТЭС-терапии при данных видах патологии [12]. Поэтому целесообразно проведение дальнейших исследований ТЭС-терапии при ИИ и ЧМТ, существует потенциальная возможность включение ТЭС-терапии в стандарты оказания помощи у больных в острейшую стадию ИИ и у пациентов с ЧМТ.

## Список литературы

1. *Волосникова Н.Н.* Состояние активности эндорфинергической системы головного мозга при острых нарушениях мозгового кровообращения. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 2004; 24.
2. *Вусик И.Ф., Каде А.Х., Куценко И.И. и др.* Изменение содержания норадреналина в сыворотке крови под воздействием ТЭС-терапии при патологическом прелиминарном периоде. *Фундаментал. исслед.* 2013; 2: 47–50.
3. *Гусев Е.И.* Неврология: национальное руководство. ГЭОТАР-Медиа, 2009.
4. *Гусев Е.И., Скворцова В.И.* Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001.
5. *Каде А.Х., Байкова Е.Е., Лебедев В.П. и др.* Влияние ТЭС-терапии на уровень  $\beta$ -эндорфина у пациентов с изолированной черепно-мозговой травмой средней и тяжелой степени тяжести. *Соврем. проблемы науки и образован.* 2014; 2. <http://www.science-education.ru/116-12837>.
6. *Лебедев В.П., Малыгин А.В.* Патент РФ № 2159639 на изобретение «Способ транскраниальной электростимуляции эндорфинных механизмов мозга и устройство для его осуществления» с приоритетом от 27 ноября 1999 г.
7. *Лебедев В.П.* Транскраниальная электростимуляция: новый подход. *Журн. Мед. Техника.* 1997; 2: 7–13.
8. *Левичкин В.Д.* Влияние ТЭС-терапии на показатели системы про/антиоксиданты у крыс с экспериментальным ишемическим инсультом. *Соврем. проблемы науки и образован.* 2014; 2: 332.
9. *Пшенникова М.Г.* Врожденная эффективность стресс-лимитирующих систем, как фактор устойчивости к стрессорным повреждениям. *Успехи физиолог. наук* 2003; 34 (3): 55–67.
10. *Соленкова Н.В.* Участие К-АТФ-каналов в реализации антиаритмического эффекта стимуляции мю- и дельта-опиатных рецепторов при острой ишемии, реперфузии и постинфарктном кардиосклерозе. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск. 2002; 22.
11. *Тиликин В.С., Каде А.Х., Занин С.А.* Особенности гормонально-го фона и цитокинового статуса при применении ТЭС-терапии в комплексном лечении острого пиелонефрита. *Вестник Муницип. здравоохран. сетевой журн.* 2012; 20 (2); <http://vestnik.kmlido.ru/pdf/12/09/09.pdf>.
12. *Трофименко А.И.* Патогенетическое обоснование применения ТЭС-терапии при ишемическом инсульте (экспериментальное исследование). Дис. ...канд. мед. наук. Краснодар. 2014; 174.
13. *Трофименко А.И., Каде А.Х., Лебедев В.П. и др.* Моделирование церебральной ишемии посредством коагуляции средней мозговой артерии у крыс. *Фундамент. исследования* 2012; 2 (1): 215–218.
14. *Gidday J.M.* Cerebral preconditioning and ischemic tolerance. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006; 7 (6): 437–448. DOI: 10.1038/nrn1927. PMID: 16715053
15. *Iwata M.* Effects of delta-opioid receptor stimulation and inhibition on hippocampal survival in a rat of forebrain ischemia. *British Journal of Anaesthesia* 2007; 99; 4: 538–546. DOI: 10.1093/bja/aem220. PMID: 17704092.
16. *Lebedev V.P., Kovalevski A.V., Gazeeva I.V. et al.* Noninvasive transcranial electrostimulation of the brain endorphinergic structures: effects on fatigue and related psychophysiological indices. *Human Physiology* 2001; 20 (27): 15–28.
17. *Nyberg F.* Opioid peptides in cerebrospinal fluid-methods for analysis and their significance in the clinical perspective. *Frontiers in Bioscience* 2004; 9: 3510–3525. DOI: 10.2741/1497. PMID: 15353373.
18. *Rother J.* Neuroprotection does not work! *Stroke* 2008; 39(2): 523–524.
19. *Staples M.* Delta opioid receptor and its peptide: a receptor ligand neuroprotection. *International journal molecular sciences* 2013; 15: 17410–17419. DOI: 10.3390/ijms140917410. PMID: 23979422.
20. *Su D.S.* Dose-dependent neuroprotection of delta opioid peptide [D-Ala<sup>2</sup>, D-Leu<sup>5</sup>] enkephalin in neuronal death and retarded behavior induced by forebrain ischemia in rats. *Neuroscience Letters* 2007; 423: 113–117. DOI: 10.1016/j.neulet.2007.06.044. PMID: 17689189.

## The effect of transcranial electrical stimulation of brain endorphinergic mechanisms on the blood $\beta$ -endorphin level in experimental ischemic stroke and traumatic brain injury

S.A. Zanin, A.Kh. Kade, A.I. Trofimenko, E.E. Baykova, V.V. Onopriev

*Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia*

**Keywords:** ischemic stroke, traumatic brain injury, TES therapy,  $\beta$ -endorphins, opioid peptides, rat.

**Objective.** The study objective was to evaluate the effect of transcranial electrical stimulation (TES therapy) of the brain endorphinergic mechanisms on opioidergic systems in experimental ischemic stroke in rats and in patients with traumatic brain injury (TBI).

**Material and methods.** The plasma  $\beta$ -endorphin level was studied in rats with experimental ischemic stroke and in TBI patients in association with TES therapy and without it on days 1, 3, 7, and 14.

**Results.** The plasma  $\beta$ -endorphin level consistently decreased in groups without TES therapy compared to the control through days 1 to 14. The use of TES therapy, starting the first day of experimental ischemic stroke in rats, promoted consistent growth and stabilization of the  $\beta$ -endorphin concentration at a level higher than the control one during the entire observation peri-

od through days 1 to 14. The  $\beta$ -endorphin level in patients with moderate to severe traumatic brain injury remained consistently decreased in association with standard therapy during the entire observation period through days 1 to 14. When applying TES therapy, the  $\beta$ -endorphin concentration was 1.39 times higher compared to that in a group of patients receiving standard treatment only.

**Discussion.** Further research of the TES therapy effect on the course and outcome of ischemic stroke and traumatic brain injury is required. There is a potential opportunity to include TES therapy in the standards of care for patients in the acute phase of ischemic stroke and for TBI patients.

**Контактный адрес:** Занин Сергей Александрович – канд. мед. наук, доц. каф. общей и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава РФ. 350063, г. Краснодар, ул. Седина, д. 4. Тел.: +7 (861) 262-40-31, zanin77@mail.ru;

Каде А.Х. – зав. каф. общей и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО КубГМУ;

Трофименко А.И. – асс. каф. общей и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО КубГМУ;

Байкова Е.Е. – асп. каф. общей и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО КубГМУ;

Оноприев В.В. – проф. каф. клинической фармакологии и функциональной диагностики ФПК и ППС ГБОУ ВПО КубГМУ.