

МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ ТЭС-ТЕРАПИИ ДЛЯ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ У МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ

Липатова А.С.¹, Поляков П.П.¹, Каде А.Х.¹, Занин С.А.¹, Трофименко А.И.¹,
Малышева Т.В.¹

¹ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар, Россия (350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4), e-mail: artemtrofimenko@mail.ru

Определенные проблемы при исследовании эффектов ТЭС-терапии представляет вопрос наложения электродов у мелких лабораторных грызунов, в частности крыс. В литературе описаны методы иммобилизации грызунов перед сеансом ТЭС-терапии: как наркозом, так и с помощью специального станка. Наша модификация методики проведения ТЭС-терапии при исследовании ее эффектов на бодрствующих крысах заключается в отсутствии фиксирующих устройств и наркоза. Для этого использованы вживляемые подкожные электроды с возможностью подсоединения к ним выходов электростимулятора. Благодаря изменениям, внесенным в методику проведения ТЭС-терапии, отпала необходимость применять при стимуляции у мелких лабораторных грызунов наркоз и средства фиксации, что является критичным при исследованиях в области патофизиологии адаптации и стресса. Дополнительными преимуществами данного способа стимуляции являются возможность проведения сеанса одним человеком без помощников, предотвращение травматизации тканей головы частым введением игольчатых электродов. Признаков коррозии электродов и гнойного воспаления в области нахождения электродов при макроскопическом исследовании в ходе эксперимента и по его окончании выявлено не было.

Ключевые слова: ТЭС-терапия, методика, электростимуляция, β -эндорфин, крыса, грызуны

MODIFICATION OF THE PROCEDURE TES-THERAPY FOR ITS USE IN SMALL LABORATORY RODENTS

Lipatova A.S.¹, Poljakov P.P.¹, Kade A.H.¹, Zanin S.A.¹, Trofimenko A.I.¹,
Malysheva T.V.¹

¹SBEI HPE «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnodar, Russia (350063, Krasnodar, Sedina street, 4), e-mail: artemtrofimenko@mail.ru

The question of electrodes imposition in small laboratory rodents, particularly rats represents the certain problems in the study of the effects of transcranial electrotherapy stimulation (TES-therapy). The literature describes some methods of rodent immobilization before a session of TES-therapy (with the help of anesthesia and with the using a process-specialized machine). The aim of our research is the description of our modified TES-therapy technique which is used to observe its effects on conscious rats without using of locking devices and anesthesia. The changes we have made to the stimulation technique is to use an implanted subcutaneous electrodes to be connected with by electrical stimulator output. Such changes helped us not to use anesthesia and locking devices, which is very critical in research in the sphere of pathophysiology of stress and adaptation. The additional advantage of this method is the ability to perform the stimulation by a single person and preventing traumatization of heads tissue by introduction of needle electrodes. No signs of corrosion of the electrodes and suppurative inflammation during and after our experiment was not identified.

Keywords: TES-therapy technique, electrical stimulation, β -endorphin, rats, rodents

Транскраниальная электростимуляция (ТЭС-терапия) представляет собой воздействие электрическим током на головной мозг через покровы черепа, приводящее к селективной активации структур, относящихся к антиноцицептивной системе (АНС) ствола мозга. Эффекты ТЭС-терапии, как центральные, так и периферические, обусловлены стимуляцией как продукции, так и выделения β -эндорфина и его влиянием на единую

нейроиммуноэндокринную регуляцию, именно этим механизмом и обусловлен системный, гомеостатический характер воздействия [8, 10].

Параметры тока и положение электродов являются строго критичными для проявления эффектов ТЭС-терапии: 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, положение электродов фронто-мастоидальное [8, 10].

Показана эффективность ТЭС-терапии в лечении широкого спектра патологий: при заболеваниях центральной и периферической нервной системы (ишемическом инсульте, черепно-мозговой травме, рассеянном склерозе, травматических повреждениях периферических нервных стволов), состоянии абстиненции, болевых синдромах различного генеза, инфаркте миокарда, гипертонической болезни, гестозе, вторичном иммунодефиците, ожоговой болезни, заживлении ран, состояниях, сопровождающихся гипер- или гипотиреозом, пиелонефрите [1-7, 9, 11-14].

В настоящее время активно продолжается изучение эффектов ТЭС-терапии в различных областях медицины, что требует проведения адекватных экспериментальных исследований на животных, в том числе на лабораторных грызунах. Определенные проблемы представляет способ наложения электродов у мелких лабораторных животных, в частности крыс. В литературе описаны методы иммобилизации грызунов дачей наркоза [1, 4, 13, 14] и с помощью специального станка [11]. К сожалению, многократное использование наркоза и фиксации нарушает критичность исследований, связанных с оценкой показателей адаптации, выносливости и устойчивости к стрессовым нагрузкам.

Целью нашей работы является модификация способа применения ТЭС-терапии при исследованиях ее эффектов на бодрствующих крысах.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено в лаборатории общей и клинической патологической физиологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России. Эксперименты проведены на 42 взрослых белых нелинейных крысах-самцах средней массой 195 ± 15 г. Содержание животных и постановка экспериментов проводились в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 11.10.1983 года и № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 г., а также международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals».

В ходе работы каждая крыса прошла курс ТЭС-терапии в течение 5 суток (по одному сеансу в день). Продолжительность первого сеанса составляла 15 мин, всех последующих — по 30 мин. ТЭС-терапию проводили с помощью модифицированного двухпрограммного

электростимулятора «ТРАНСАИР-03» (ООО «Центр транскраниальной электростимуляции», г. Санкт-Петербург) (рис. 1).



Рис. 1. Аппарат транскраниальной электростимуляции «Трансаир-03»

Параметры ТЭС-терапии для крыс представлены в таблице 1 [8, 10].

Таблица 1

Параметры электрического тока, используемого при проведении ТЭС-терапии в режиме анальгезии у крыс

Частота, Гц	Длительность импульса, мс	Величина суммарного тока, мА
70±2	3,75±0,25	0,6–2,5

Перед установкой постоянных подкожных электродов для проведения ТЭС-терапии крысу наркотизировали, используя: золетил 0,4 мг на 100 г веса крысы в/м («Virbac» Франция), ксиланит 0,4 мг на 100 г веса крысы в/м (ЗАО «НИТА-ФАРМ, Россия, г. Саратов) [13]. Глубину наркоза верифицировали по угнетению роговичного рефлекса и исчезновению реакции на болевые раздражители (укол лапы). В качестве подкожных электродов использовали булавки с антикоррозийным покрытием. Электроды располагали фронтально-мастоидально (сдвоенный катод – в области лба над глазницами, сдвоенный анод – позади ушных раковин). Предварительно перед установкой электродов место их установки и сами электроды обрабатывались 0,05%-ным водным раствором хлоргексидина. После установки электродов крысам проводился курс из 5 сеансов ТЭС-терапии (без использования седативных препаратов и методов фиксации). Крысы во время сеансов ТЭС-терапии имели возможность свободно перемещаться за счет того, что к установленным под кожу электродам на момент проведения процедуры подключались клеммы к удаленным выходам прибора (рис. 2).

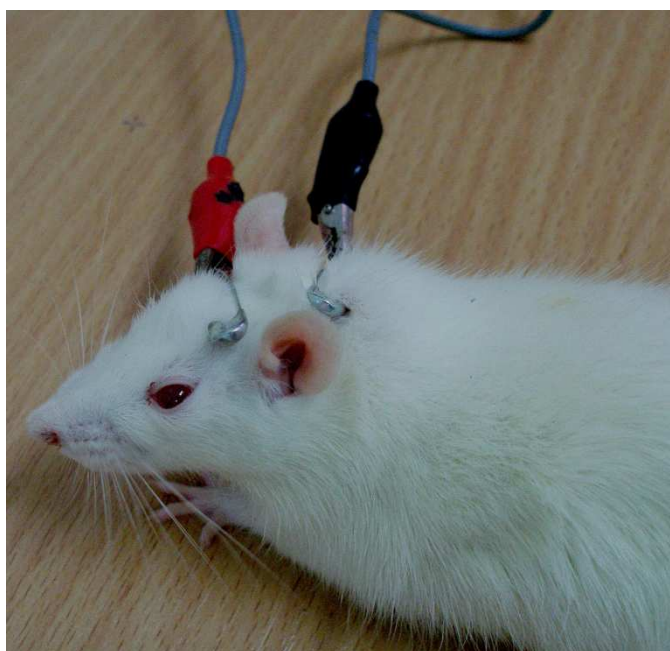


Рис. 2. Процедура проведения ТЭС-терапии

По окончании курса ТЭС-терапии, на 6-й день эксперимента, проводили исследование булавок, используемых в качестве электродов, на наличие коррозии. Оценка места установки электродов на наличие признаков воспалительного процесса проводилась макроскопически (после эвтаназии) к моменту завершения эксперимента у крыс.

Результаты исследования и их обсуждение

В течение всего периода исследования на булавках, используемых в качестве электродов, признаков коррозии не обнаруживалось. При макроскопическом исследовании (после эвтаназии) состояния мягких тканей головы животных признаков воспаления обнаружено не было. За весь период работы с использованием данного способа стимуляции негативная поведенческая реакция наблюдалась только однократно. После вживления подкожных электродов сеансы ТЭС-терапии проводили следующим образом: крысу фиксировали рукой, скрестив передние лапы на груди животного, успокаивали поглаживанием и крепили клеммы-крокодилы к булавкам – сначала анод, затем катод, затем на приборе свободной рукой устанавливали время сеанса – 30 мин и постепенно наращивали силу тока до 0,6 мА. В этот момент большинство животных начинало проявлять беспокойство, однако менее чем через 1 мин крысы успокаивались. С этого момента силу тока можно увеличивать до 1,0 мА и помещать крысу в клетку или на поверхность стола. Крысы, как правило, вели себя спокойно на протяжении всего сеанса: умывались и засыпали. При этом реакция на внешние раздражители оставалась сохранной. Такое состояние отмечено в течение всей стимуляции и спустя 5–10 мин после ее окончания. В дальнейшем поведение не отличалось от такового у контрольных животных. Грызуны, имевшие

положительный опыт стимуляции, стремились забраться в клетку, где проводился эксперимент.

Заключение

Нами была модифицирована методика проведения ТЭС-терапии у мелких лабораторных грызунов (крыс). Изменения, внесенные в способ проведения стимуляции, заключаются в использовании вживляемых подкожных электродов с возможностью подсоединения к ним выходов электростимулятора. Благодаря изменениям, внесенным в методику проведения ТЭС-терапии, отпала необходимость применять у мелких лабораторных грызунов наркоз и средства фиксации, что является критичным при исследованиях в области патофизиологии адаптации и стресса. Дополнительными преимуществами данного метода стимуляции являются возможность выполнения ее одним человеком без помощников, предотвращение травматизации тканей головы частым введением игольчатых электродов. Признаков коррозии электродов и гнойного воспаления в области нахождения электродов при макроскопическом исследовании в ходе эксперимента и по его окончании выявлено не было.

Список литературы

1. Апсалямова С.О. Влияние ТЭС-терапии на показатели цитокинов при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 6-2. – С. 337–340.
2. Байкова Е.Е. Динамика цитокинового статуса у больных с изолированной черепно-мозговой травмой средней и тяжелой степени тяжести // *Кубанский научный медицинский вестник*. – 2014. – № 3 – С. 15–19.
3. Богданова Ю.А. Применение транскраниальной электростимуляции у больных с вторичной иммунной недостаточностью / Ю.А. Богданова, А.Х. Каде, Р.А. Ханферян // *Аллергология и иммунология*. – 2000. – № 1(2). – С. 33–34.
4. Борисенко В.Г. Влияние ТЭС-терапии на состояние кардиомиоцитов крыс с экспериментальным инфарктом миокарда // *Кубанский научный медицинский вестник*. – 2008. – № 5 – С. 28–30.
5. Вчерашнюк С.П. Динамика уровня некоторых гормонов при использовании ТЭС-терапии в комплексном лечении гестоза / С.П. Вчерашнюк, А.Х. Каде // *Кубанский научный медицинский вестник*. – 2011. – № 2. – С. 21–23.
6. Дыдышко Е.И. Динамика показателей иммуноантиоксидантного статуса у пациентов с гипотиреозом на фоне ТЭС-терапии / Е.И. Дыдышко, О.С. Охременко, В.Д. Левичкин // *Кубанский научный медицинский вестник*. – 2014. – № 4. – С. 50–54.

7. Каде А.Х. Возможность применения транскраниальной электростимуляции для купирования стресс-индуцированной артериальной гипертензии у студентов вузов // *Фундаментальные исследования*. — 2013. — № 5 (1). — С. 79–81.
8. Лебедев В.П. Об опиидном механизме транскраниальной электроанальгезии у крыс и мышей / В.П. Лебедев, А.Б. Савченко, Н.В. Петряевская // *Физиол. журн. СССР*. — 1988. — Т. 74. — № 9. — С. 1249–1256.
9. Рычкова С.В. Транскраниальная электростимуляция: обоснованность применения и клиническая эффективность // *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. — 2006. — № 5. — С. 44–47.
10. Савченко А.Б. Центральный анальгетический и периферические эффекты транскраниальной электростимуляции: автореф. дис. ...канд. биол. наук. — Л., 1994. — 22 с.
11. Сеин Б.С. Коррекция адаптационных процессов у животных с использованием транскраниальной электростимуляции: дис. ... канд. биол. наук. — Курск, 2009. — 155 с.
12. Тиликин В.С. Влияние ТЭС-терапии на показатели провоспалительных цитокинов у больных с острым пиелонефритом // *Кубанский научный медицинский вестник*. — 2012. — №1. — С. 169–172.
13. Трофименко А.И. Патогенетическое обоснование применения ТЭС-терапии при ишемическом инсульте (экспериментальное исследование): автореф. дис. ...канд. мед. наук. — Краснодар, 2014. — 24 с.
14. Трофименко А.И. Влияние ТЭС-терапии на исходы острого адреналинового повреждения сердца у крыс // *Кубанский научный медицинский вестник*. — 2013. — № 5 (140). — С. 174–180.
15. Mikhalchenko D.V. Influence of transcranial electrostimulation of the osseointegration of dental implant in the experiment // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Science*. — 2014. — Т. 5 — № 5 — С. 705–711.

Рецензенты:

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор, заведующая ЦНИЛ Отдела клинической экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар;

Абушкевич В.Г., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Краснодар.