



УДК 612

## АНОДНАЯ ТРАНСКРАНИАЛЬНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ ПОСТОЯННЫМ ТОКОМ УВЕЛИЧИВАЕТ ЦЕРЕБРАЛЬНЫЙ КРОВОТОК, ОКСИГЕНАЦИЮ ТКАНЕЙ И СНИЖАЕТ НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У МЫШЕЙ В НОРМЕ И В ПОЗДНЕМ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ



О. А. Брагина, О. В. Семячкина-Глушковская, Д. Е. Брагин

Брагина Ольга Анатольевна, соискатель кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, obragina@salud.unm.edu

Семячкина-Глушковская Оксана Валерьевна, доктор биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, glushkovskaya@mail.ru

Брагин Денис Евгеньевич, кандидат биологических наук, доцент, медицинская школа Южно-американского университета, США, dbragin@salud.unm.edu

Черепно-мозговые травмы (ЧМТ) являются актуальной проблемой современной медицины, так как вызывают неврологические нарушения у большинства пациентов при отсутствии эффективных, подтверждённых в клинических исследованиях методов терапии. Транскраниальная стимуляция постоянным током (tDCS) является многообещающим электротерапевтическим методом реабилитации после ЧМТ, однако оптимальные параметры стимуляции и механизмы действия не определены ввиду отсутствия доклинических исследований. Используя модель черепно-мозговой травмы у мышей, мы исследовали влияние анодной tDCS на церебральный кровоток и оксигенацию головного мозга и оценили эффективность стимуляции в восстановлении неврологических функций в зависимости от времени начала применения после травмы. ЧМТ вызывала поражение коры головного мозга и гиппокампа, снижение церебрального кровотока и гипоксию в области периконтузии и, как следствие, нарушение неврологических функций. Лазерная спекл-визуализация показала, что анодная tDCS вызывает увеличение регионального кровотока коры головного мозга. На микрососудистом уровне, используя *in vivo* двухфотонную лазерную сканирующую микроскопию, мы показали, что анодная tDCS вызывает дилатацию артериол, приводящую к увеличению капиллярного кровотока и оксигенации тканей. Четырехнедельный курс анодной tDCS значительно улучшал моторные и когнитивные неврологические показатели. Группа, в которой стимуляция начиналась через 3 недели после ЧМТ, продемонстрировала лучшее восстановление после травмы по сравнению с группой, в которой стимуляция начиналась через 1 неделю после ЧМТ, что указывает на то, что поздний посттравматический период является более оптимальным для применения анодной tDCS.

**Ключевые слова:** транскраниальная стимуляция постоянным током, вазодилатация, церебральный кровоток, черепно-мозговая травма.

DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-354-360

### Введение

Черепно-мозговые травмы (ЧМТ) представляют собой актуальную медицинскую проблему, так как являются одними из самых распространенных и опасных заболеваний головного мозга, которые вызывают хронические неврологические нарушения у выживших пациентов. В России около 700 тыс. человек получают ЧМТ каждый год, 50 тыс. из них становятся инвалидами [1]. Как правило, за первичной травмой следуют вторичные патофизиологические процессы, продолжающиеся в течение нескольких месяцев после травмы, что обеспечивает широкое терапевтическое окно для эффективного лечения и восстановления. К сожалению, на сегодняшний день эффективного метода терапии и реабилитации ЧМТ, подтверждённого клиническими исследованиями, не существует [2]. Транскраниальная стимуляция постоянным током (tDCS) является многообещающим электротерапевтическим методом реабилитации, предложенным для лечения ЧМТ [3]. Однако отсутствие достаточного понимания механизмов действия и определённых оптимальных параметров стимуляции вследствие недостаточного количества доклинических исследований препятствует внедрению данного метода в практику. Считается, что в основе непосредственных эффектов tDCS лежит воздействие на возбудимость мембран нейронов [4]. В некоторых недавних работах было показано, что астроциты могут являться возможной первичной мишенью tDCS [5]. В других работах также было показано, что tDCS модулирует церебральный кровоток [6], однако механизмы изменения кровотока не известны. Как известно, снижение церебрального кровотока и наличие тканевой гипоксии являются распространёнными осложнениями после ЧМТ, и их улучшение способствует позитивной динамике улучшения после ЧМТ [7]. Мы предположили, что восстановление нарушенного после ЧМТ кровотока при применении tDCS может способствовать улучшению неврологических функций после ЧМТ.



В данном исследовании было изучено непосредственное влияние анодной tDCS на церебральную микроциркуляцию и оксигенацию тканей головного мозга мыши и определено оптимальное терапевтическое окно эффективного использования стимуляции с целью улучшения неврологических показателей у мышей с экспериментальной моделью черепно-мозговой травмы.

### Материалы и методы

#### Общий дизайн исследований

Протокол исследований был одобрен Комитетами по уходу и использованию лабораторных животных Саратовского государственного университета (протокол 7) и университета Нью-Мексико (№ 200247). Исследования были выполнены в соответствии с «Руководством по использованию лабораторных животных» [8] на 8 группах по 10 мышей в каждой: ЧМТ и без ЧМТ; с tDCS и без tDCS; через одну и три недели после травмы (таблица).

Метод tDCS, mA

Период после ЧМТ, неделя	Экспериментальные группы (10 мышей в группе)			
	Ложнооперированные	ЧМТ		
1	0	0,1	0	0,1
3	0	0,1	0	0,1

В качестве модели ЧМТ использовался метод контролируемого коркового повреждения головного мозга [9], которое наносилось при помощи стереотаксического импактора Benchmark (Leicabiosystems, Германия) с использованием плоского наконечника диаметром 3 мм, падающего со скоростью 5 м/с и глубиной проникновения 2,0 мм от поверхности коры, как описано в нашей предыдущей работе [10]. Ложнооперированные животные подвергались только краниотомии.

Мультисессионная анодная tDCS (0,1 mA / 15 мин) или ложная стимуляция (0 mA / 15 мин) начиналась через одну или три недели после ЧМТ и проводилась в течение 4 недель, при этом 4 последовательных дня стимуляции сменялись 3-дневными интервалами покоя. Анодный хлор-серебряный электрод диаметром 5 мм, смазанный токопроводящим гелем, размещали на коже непосредственно над краниотомией, катодный электрод на грудной клетке.

Тонус и кровоток микрососудов коры головного мозга, проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и оксигенация тканей (НАД-Н) измерялись до и после анодной tDCS с помощью *in vivo* 2-фотонного лазерного скани-

рующего микроскопа (2ФЛСМ); региональный кровоток с использованием *in vivo* лазерной спекл-визуализации (ЛСВ).

Для определения влияния курса tDCS на моторные и когнитивные функции мышей в раннем и позднем посттравматических периодах после ЧМТ неврологическое восстановление животных оценивали через одну неделю после окончания курса tDCS с помощью серии поведенческих тестов.

#### Лазерная спекл-визуализация

*In vivo* ЛСВ региональной перфузии коры головного мозга осуществлялась путем освещения черепа лазерным диодом длиной волны 785 нм и регистрацией отраженного света с длиной волны более 720 нм цифровой камерой как описано ранее [11]. Метод основан на эффекте беспорядочной интерференции, известной как спекл, происходящей при освещении объекта исследования лазерным светом. Движущиеся эритроциты изменяют интенсивность спеклов, предоставляя информацию о движении кровяных клеток в сосудах.

#### Двухфотонная лазерная сканирующая микроскопия

ДФЛСМ осуществлялась с помощью системы Prairie View Ultima (Prairie Technologies, США), 10-ваттного диодного лазера накачки Millennium Prime (Spectra-Physics, США) и титан-сапфирового лазера двухфотонной эмиссии Tsunami (Spectra-Physics, США), настроенного на длину волны 750 нм, как описано в наших предыдущих работах [12]. Для исследования микроциркуляции 5% раствор флуоресцентного тетраметилпродамин-изотиоцианат-декстрана (TAMRA, 500 кДа) в физиологическом растворе был введен в кровоток через хвостовую вену до достижения конечной концентрации в крови 150 мкМ/л. Флуоресценция визуализировалась при помощи 20-кратного водно-иммерсионного объектива LUMPlan FL/IR 20X/0.5W (Olympus, Япония), отфильтровывалась оптическим фильтром с пропусканием 570–600 нм для TAMRA и 425–475 нм для НАД-Н и регистрировалась программой Prairie View. Все видимые микрососуды в объеме визуализации (500 × 500 × 300 мкм, XYZ) были отсканированы на каждом этапе исследования, скорость красных клеток крови (ККК) и диаметр каждого сосуда были измерены. При последующем анализе с использованием программы NIH ImageJ трехмерная анатомия сосудистой сети в интересующей нас области реконструировалась из Z-стеков плоских изображений и микрососуды были распределены по типам. Капилляры определялись как сосуды с диаметром от 3 до 8 мкм,



характерной извитостью и однопоточным расположением красных кровяных телец [13]. Пиальные, проникающие и прекапиллярные артериолы и венулы дифференцировались по морфологии и скорости потока эритроцитов и диаметру от 9 до 100 мкм [13].

Проницаемость ГЭБ оценивалась путём измерения динамики флуоресценции периваскулярной ткани головного мозга на уровне 50 мкм от пиальной поверхности в течение 15 мин после внутривенной инъекции 5% раствора TAMRA (150 кДа), как описано в предыдущих работах [12]. Флуоресценция 10 случайно выбранных сосудов и 10 регионов периваскулярной паренхимы мозга на каждом изображении была проанализирована при помощи программы ImageJ. Значения флуоресценции, полученные в интерстициальном пространстве, были нормализованы к максимальной интенсивности в кровеносных сосудах и выражены как процент интенсивности флуоресценции.

Тканевую гипоксию оценивали путем измерения аутофлуоресценции НАД-Н. Кофермент НАД-Н является первичным донором электронов в окислительном фосфорилировании в митохондриях клеток и его окислительно-восстановительное состояние отражает митохондриальную активность, которая зависит от насыщения тканей кислородом. Восстановленный НАД-Н является флуоресцентным с максимумом эмиссии 447 нм, в то время как окисленный НАД<sup>+</sup> нет, поэтому его флуоресценция НАД-Н является чувствительным индикатором насыщения клеток кислородом и может использоваться для оценки оксигенации ткани/уровня гипоксии [14].

#### *Поведенческое тестирование*

Тест «Ротарод» использовался для определения координации и моторного дефицита и был выполнен при помощи установки Ротарод, управляемой компьютером (San Diego Instruments, США). При этом автоматически регистрировалось время, проведенное животным на вращающемся роторе.

Методика условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) применялась для оценки способности животных к обучению, основанной на теории классического обусловливания И. П. Павлова. Выработка условного рефлекса избегания осуществлялась в камере Gemini Avoidance System, контролируемой программным обеспечением (San Diego Instruments, США). Камера состояла из двух сообщающихся отсеков – освещённого и тёмного, которые разделялись закрываемой заслонкой между ними. Мышь помещалась в светлый отсек и согласно

рефлекторному предпочтению перебегала в тёмный отсек, где подвергалась однократному шоку электрическим током (0,5 мА) длительностью пять секунд через металлическую решётку пола. На следующий день после тренировки мышь снова помещалась в освещённый отсек камеры, и регистрировалось латентное время перехода в темный отсек.

Тест «У-образный лабиринт» применялся для измерения рабочей памяти и осуществлялся с использованием компьютерной системы (Noldus, EthoVision). В результате анализа было посчитано общее число выбранных рукавов и число спонтанных альтераций (т.е. случаев, где предыдущие два варианта выбранных рукавов отличались от третьего).

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 6.0 (La Jolla, CA, США). Для оценки статистической значимости полученных результатов использовались *t*-тест Стьюдента или тест Колмогорова–Смирнова, межгрупповые различия оценивались с помощью двухстороннего ANOVA. Уровень значимости был установлен  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

#### **Результаты и их обсуждение**

##### *Непосредственное влияние анодной tDCS на церебральный кровоток*

ЧМТ средней степени тяжести вызывала повреждение в тканях коры головного мозга и в подкорковых зонах, включая гиппокамп. Окраска по Ниссля показала нейродегенеративные изменения гиппокампа и теменной соматосенсорной коры с 18%-ной потерей нейронов по сравнению с контралатеральным полушарием.

Региональный церебральный кровоток в области периконтузии составлял  $48,8 \pm 8,8\%$  от базового уровня до стимуляции (рис. 1, *a*). Анодная tDCS увеличивала региональный церебральный кровоток билатерально в коре головного мозга у ложнопериоперированных мышей и мышей с ЧМТ (см. рис. 1, *a*,  $p < 0,05$ ).

При помощи двухфотонной микроскопии было выявлено, что ЧМТ вызывала спазм артериол, снижение микроциркуляции и тканевой оксигенации в периконтузионной зоне коры головного мозга (см. рис. 1, *b–z*). Анодная tDCS вызывала дилатацию артериол, сопровождаемую увеличением объёмного артериолярного кровотока (см. рис. 1, *b*,  $p < 0,01$ ), что, в свою очередь, способствовало увеличению скорости кровотока в капиллярах (см. рис. 1, *b*,  $p < 0,05$ ). Улучшенная перфузия в капиллярах после tDCS вызывала про-

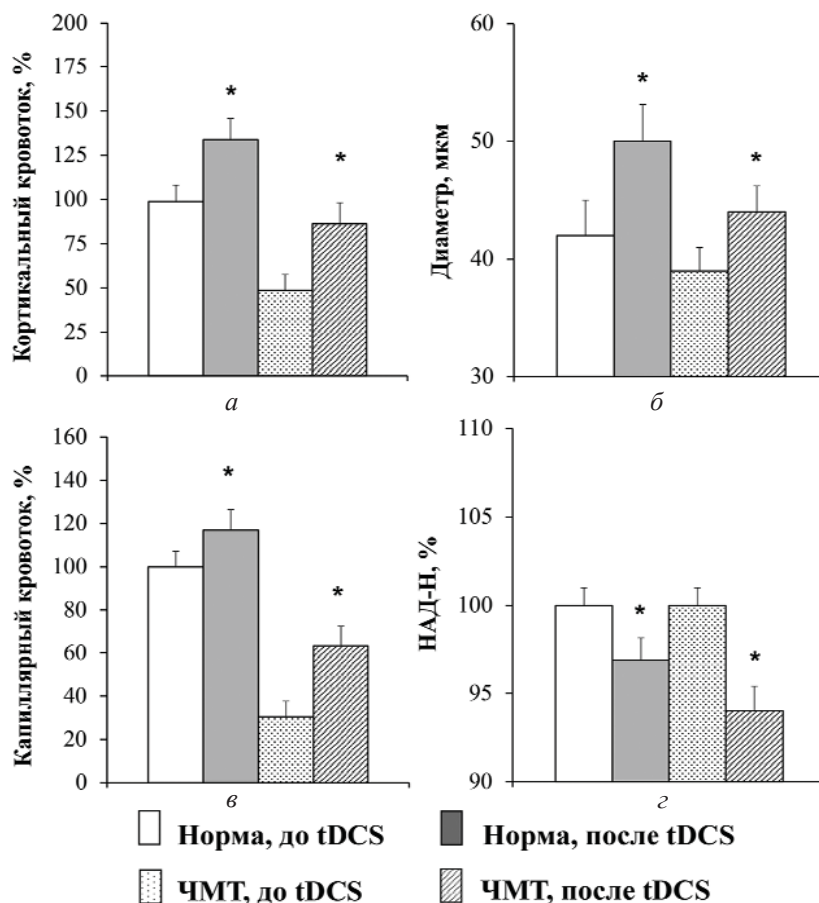


Рис. 1. Анодная tDCS улучшает церебральную микроциркуляцию и оксигенацию тканей головного мозга мыши: а – увеличение регионального церебрального кровотока; б – дилатация артериол; в – увеличение скорости эритроцитов в капиллярах; г – увеличение оксигенации тканей (снижение аутофлуоресценции НАДФ-Н). N = 10 для каждой группы, среднее арифметическое ± SEM, \*p < 0,05

должительное увеличение оксигенации тканей, отразившееся в уменьшении аутофлуоресценции НАДФ-Н в травмированном и нормальном мозге (см. рис. 1, г, p < 0,05).

Таким образом, анодная tDCS увеличивает церебральную микроциркуляцию и оксигенацию тканей вследствие дилатации артериол как у травмированных, так и у ложнооперированных мышей. Вазодилатация церебральных артериол после анодной tDCS может быть вызвана увеличенным синтезом оксида азота вследствие активации синтазы оксида азота (NOS), как показано в наших предыдущих работах на здоровом мозге крыс при воздействии импульсной стимуляции электромагнитным полем [15]. В дальнейших исследованиях следует определить, что является клеточной мишенью воздействия анодной tDCS и какая именно изоформа NOS (эндотелиальная или нейрональная) в первую очередь вызывает вазодилатацию вследствие стимуляции.

#### Влияние курса анодной tDCS

##### на неврологический статус мышей

Ухудшение церебрального кровотока и фокальная гипоксия тканей являются основными компонентами патофизиологии ЧМТ [16], поэтому увеличение мозгового кровотока может способствовать улучшению реабилитации в посттравматический период после ЧМТ.

В группе травмированных животных наблюдалось нарушение моторной функции и координации по сравнению с ложнооперированными животными, так как латентный период падения с вращающегося ротора (Ротарод) был существенно ниже (рис. 2, а). Мультибессеционный курс анодной tDCS значительно улучшал моторную функцию в стимулированной группе травмированных мышей, в которой стимуляция начиналась через 3 недели после ЧМТ; латентный период падения в стимулированной группе был более продолжительным, чем в группе с ложной стимуляцией (см. рис. 2, а, p < 0,05).



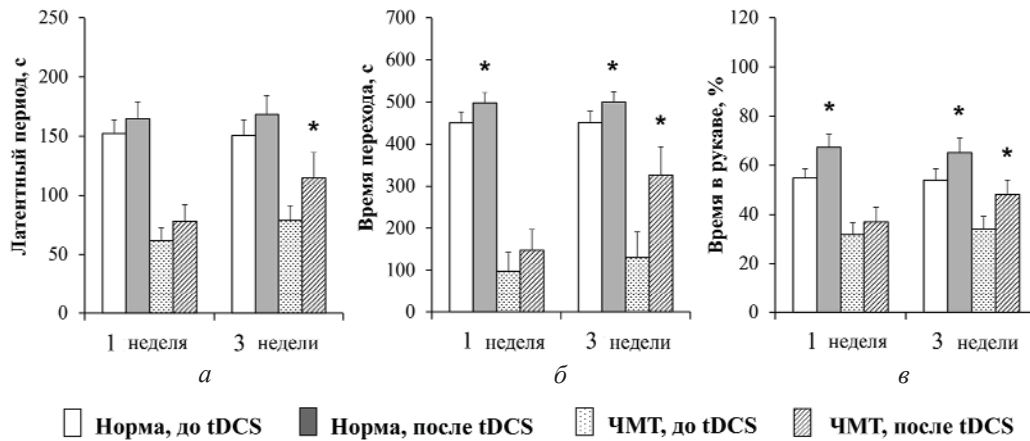


Рис. 2. Мультиセッションный курс анодной tDCS уменьшал неврологические нарушения, вызванные ЧМТ: а – тест Ротарод показал улучшение моторной функции и координации; б – методика УРПИ показала улучшение памяти и способности к обучению; в – тестирование в Y-образном лабиринте показало улучшение пространственной рабочей памяти.  $N = 10$  для каждой группы, среднее арифметическое  $\pm$  SEM,  $*p < 0,05$

Методика УРПИ выявила нарушение памяти и способности к обучению у травмированных мышей по сравнению с ложнооперированными (см. рис. 2, б). В стимулированной группе животных с ЧМТ, в которой стимуляция была начата через 3 недели после травмы, способности к обучению и память были лучше; латентное время перехода было значительно выше по сравнению с ложностимулированной группой (см. рис. 2, б,  $p < 0,01$ ). Следует отметить, что в группах ложнооперированных мышей в стимулированной группе также наблюдалось значительное улучшение когнитивных показателей в сравнении с ложностимулированной группой,  $p < 0,05$ .

Тестирование в Y-образном лабиринте показало, что ЧМТ нарушает пространственную рабочую память, так как мыши проводили одинаковое количество времени во всех трех рукавах (см. рис. 2, в). Мыши с ЧМТ, в которых стимуляция начиналась через 3 недели после травмы, чаще заходили в новый открытый рукав по сравнению с ложностимулированными мышами, что указывает на сохранение пространственной рабочей памяти в большей степени (см. рис. 2, в,  $p < 0,05$ ). В ложнооперированной группе анодная стимуляция также значительно улучшала пространственную рабочую память по сравнению с ложностимулированными мышами (см. рис. 2, в,  $p < 0,05$ ). Несмотря на то что мыши в группе с ЧМТ, в которой курс анодной tDCS был начат через одну неделю после травмы, показали более лучшие результаты, чем ложностимулированные, разница не была статистически значимой.

#### Влияние анодной tDCS на гематоэнцефалический барьер

Причина различия в динамике изменений неврологических показателей у мышей с ЧМТ в ранний и поздний посттравматические периоды осталась не выяснена, однако мы предположили, что в более ранний посттравматический период активно протекают патофизиологические процессы, включая перестройку церебральной сосудистой системы. Как известно, в стрессовых и постстрессовых состояниях гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), обеспечивающий разграничение кровяного русла и тканей мозга, становится более проницаемым и состояние его проницаемости может служить маркером стресса.

В ходе эксперимента было показано, что до стимуляции ГЭБ во всех группах был интактным: через 15 мин после инъекции флуоресценция составила  $9,8 \pm 1,2$ ,  $13,5 \pm 2,3$  и  $11,5 \pm 2,5\%$  в ложнооперированных, 1-недельной ЧМТ и 3-недельной ЧМТ группах соответственно. Однако после анодной tDCS в группе, в которой стимуляция была начата через одну неделю после травмы, флуоресценция увеличилась до  $55,2 \pm 18,1\%$ ,  $p < 0,01$ , что отражает усиление проницаемости ГЭБ. При этом в ложнооперированной группе и группе с началом стимуляции через 3 недели после ЧМТ ГЭБ оставался интактным:  $9,9 \pm 1,3$  и  $12,5 \pm 2,4\%$  соответственно.

Таким образом, поздний посттравматический период является более оптимальным для эффективного применения анодной tDCS, так как в группе мышей, в которой стимуляция началась через 3 недели после травмы, восстановление моторных и когнитивных функций про-

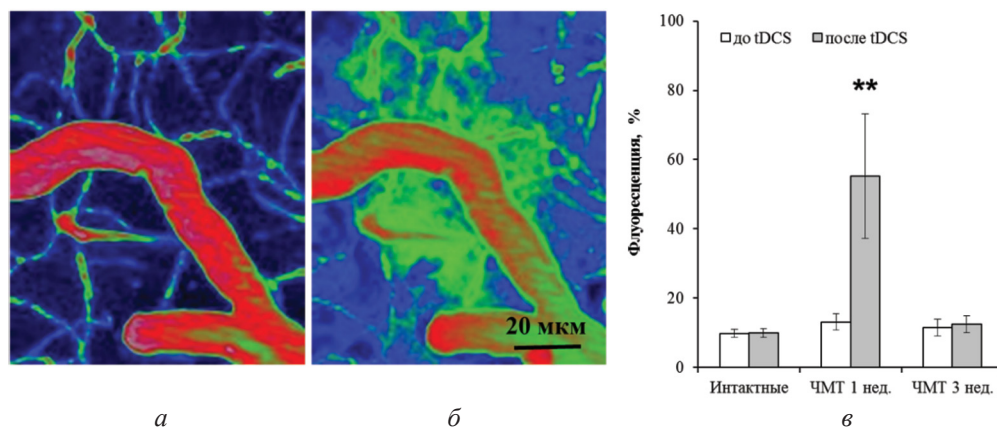


Рис. 3. Влияние tDCS на проницаемость гематоэнцефалического барьера: *а* – псевдоцветная микрофотография, показывающая яркие микрососуды, заполненные красителем и тёмную паренхиму головного мозга с интактным ГЭБ; *б* – та же область, со сниженной флуоресценцией в сосудах и увеличенной в приваскулярной паренхиме из-за экстравазации декстрана вследствие увеличения проницаемости ГЭБ; *в* – график, иллюстрирующий увеличение проницаемости ГЭБ в группе, в которой анодная стимуляция была начата через 1 неделю после ЧМТ;  $**p < 0,01$

ходило намного лучше, чем в группе, в которой стимуляция начиналась через 1 неделю после ЧМТ. Острые патофизиологические каскады, в том числе дисфункция гематоэнцефалического барьера и ауторегуляции церебрального кровотока, а также процессы регенерации, включая ангиогенез, которые все еще активны через одну неделю после ЧМТ [17], могут быть возможными причинами неэффективности анодной tDCS. Тогда как ГЭБ в ложнооперированном мозге и мозге в позднем посттравматическом периоде, где основные активные патологические изменения завершены, нечувствителен к воздействию tDCS. Вероятно, что в раннем посттравматическом периоде анодная стимуляция является дополнительным стрессом, вызывающим увеличение проницаемости ГЭБ, ведущую к усилению протекающих патофизиологических процессов и снижению позитивного эффекта стимуляции. Это подчеркивает важность определения терапевтического окна для эффективного и безопасного применения анодной tDCS.

### Заключение

Анодная tDCS увеличивает микроциркуляцию и оксигенацию тканей головного мозга вследствие дилатации артериол в нормальном и травмированном мозге мыши, что, в свою очередь, способствует улучшению неврологических показателей. Полученные результаты подчеркивают важность определения терапевтического окна для эффективного и безопасного применения анодной tDCS.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-75-20069) и National Institutes of Health / National Institute of General Medical Sciences (P20GM109089).

### Список литературы

1. *Потанов А. А., Лихтерман Л. Б.* Черепно-мозговая травма // Клиническая неврология : в 3 т. Основы нейрохирургии / под ред. А. Н. Коновалова. М. : Медицина, 2004. Т. 3 : в 2 ч. Ч. 1.
2. *Jain K. K.* Neuroprotection in traumatic brain injury // Drug Discovery Today. 2008. Vol. 13. P. 1082–1089.
3. *Clayton E., Kinley-Cooper S. K., Weber R. A., Adkins D. L.* Brain stimulation : Neuromodulation as a potential treatment for motor recovery following traumatic brain injury // Brain Res. 2016. Vol. 1640. P. 130–138.
4. *Nitsche M. A., Paulus W.* Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation // J. Physiol. 2000. Vol. 527, № 3. P. 633–639.
5. *Monai H., Ohkura M., Tanaka M., Konno Y., Oe A., Hirai H., Mikoshiba K., Itohara S., Nakai J., Iwai Y., Hirase H.* Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain // Nat. Commun. 2016. Vol. 7. P. 1–10.
6. *Wachter D., Wrede A., Schulz-Schaeffer W., Taghizadeh-Waghefi A., Nitsche M. A., Kutschenko A., Rohde V., Liebetanz D.* Transcranial direct current stimulation induces polarity-specific changes of cortical blood perfusion in the rat // Exp. Neurol. 2011. Vol. 227, № 2. P. 322–327.
7. *Overgaard J., Tweed W. A.* Cerebral blood flow and its regulation after closed head injury with emphasis on clinical correlations // J. Neurosurg. 1974. Vol. 41. P. 531–541.
8. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Institute for Laboratory Animal Research, Division on Earth and Life Studies, Na-



tional Research Council of the National Academies, Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington : The National Academies Press, 2011. URL: <http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guide.pdf> (accessed 28 February 2012).

9. Smith D. H., Soares H. D., Pierce J. S., Perlman K. G., Saatman K. E., Meaney D. F., Dixon C. E., McIntosh T. K. A model of parasagittal controlled cortical impact in the mouse : cognitive and histopathologic effects // *J. Neurotrauma*. 1995. Vol. 12, № 2. P. 169–178.
10. Chohan M. O., Bragina O. A., Kazim S. F., Statom G. L., Baazaoui N., Bragin D. E., Iqbal K., Nemoto E. M., Yonas H. Enhancement of neurogenesis and memory by a neurotrophic peptide in mild to moderate traumatic brain injury // *Neurosurgery*. 2015. Vol. 76, № 2. P. 201–214.
11. Semyachkina–Glushkovskaya O. V., Bibikova O. A., Semyachkin–Glushkovskiy I. A., Sindeev S. S., Zinchenko E. M., Mohhanad M. K., Braun H. A., Al-Fatle F., Al Hassani L., Tuchin V. V. The assessment of pathological changes in cerebral blood flow in hypertensive rats with stress induced intracranial hemorrhage using Doppler OCT: Particularities of arterial and venous alterations // *Photonics & Lasers in Medicine*. 2013. Vol. 2, № 2. P. 109–116.
12. Bragin D. E., Kameneva M. V., Bragina O. A., Thomson S., Statom G. L., Lara D. A., Yang Y., Nemoto E. M. Rheological effects of drag-reducing polymers improve cerebral blood flow and oxygenation after traumatic brain injury in rats // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2017. Vol. 37, № 3. P. 762–775.
13. Kleinfeld D., Mitra P. P., Helmchen F., Denk W. Fluctuations and stimulus-induced changes in blood flow observed in individual capillaries in layers 2 through 4 of rat neocortex // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95, № 26. P. 15741–15746.
14. Chance B., Oshino N., Sugano T., Mayevsky A. Basic principles of tissue oxygen determination from mitochondrial signals // *Adv. Exp. Med. Biol.* 1973. Vol. 37. P. 277–292.
15. Bragin D. E., Statom G. L., Hagberg S., Nemoto E. M. Increases in microvascular perfusion and tissue oxygenation via pulsed electromagnetic fields in the healthy rat brain // *J. Neurosurg.* 2015. Vol. 122, № 5. P. 1239–1247.
16. Schroder M. L., Muizelaar J. P., Bullock M. R., Salvant J. B., Povlishock J. T. Focal ischemia due to traumatic contusions documented by stable xenon-CT and ultrastructural studies // *J. Neurosurg.* 1995. Vol. 82, № 6. P. 966–971.
17. Pop V., Badaut J. A neurovascular perspective for long-term changes after brain trauma // *Transl. Stroke Res.* 2011. Vol. 2, № 4. P. 533–545.

### **Anodal Transcranial Direct Current Stimulation Increases Cerebral Blood Flow, Tissue Oxygenation and Improves Neurological Functions in Intact Mice and in the Late Posttraumatic Period of Traumatic Brain Injury**

**O. A. Bragina, O. V. Semyachkina-Glushkovskaya, D. E. Bragin**

Olga A. Bragina, ORCID 0000-0003-2810-9764, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, obragina@salud.unm.edu

Oxana V. Semyachkina-Glushkovskaya, ORCID 0000-0001-6753-7513, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, glushkovskaya@mail.ru

Denis E. Bragin, ORCID 0000-0003-4894-0061, Department of Neurosurgery, University of New Mexico School of Medicine, MSC 10 5615, NM, 87131, USA, dbragin@salud.unm.edu

Traumatic brain injury (TBI) is a major health problem that causes long term neurological deficit in the majority of patients and does not have any clinically proved effective treatment. Transcranial direct current stimulation (tDCS) is an emerging electroceutical therapy suggested for TBI rehabilitation. However, optimal parameters of stimulation and mechanisms of action are not determined due to lack of preclinical studies, impeding its clinical implementation. Using the mouse model of TBI, we investigated the effects of anodal tDCS on cerebral blood flow and tissue oxygenation and evaluated the time-dependent efficacy of tDCS in improvement of neurologic outcome. TBI caused damage to cerebral cortex and hippocampus, associated with a progressive decrease in cerebral blood flow and tissue oxygenation in the pericontusional area followed by neurological impairment. *In vivo* laser speckle imaging showed that anodal tDCS causes an increase in regional blood flow in the cerebral cortex. At the microvascular level, using *in vivo* two-photon laser scanning microscopy, we have shown that anodal tDCS causes dilatation of arterioles, leading to an increase in capillary blood flow and tissue oxygenation. The four-week course of anodal tDCS significantly improved motor and cognitive neurological functions. The group in which stimulation started 3 weeks after TBI showed a better recovery from injury than the group in which stimulation started 1 week after TBI, indicating that the late post-traumatic period is more optimal for the use of anodal tDCS.

**Key words:** transcranial direct current stimulation, vasodilation, cerebral blood flow, traumatic brain injury.

**Acknowledgements:** This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 17-75-20069) and National Institutes of Health / National Institute of General Medical Sciences (P20GM109089).

#### **Образец для цитирования:**

Брагина О. А., Семячкина-Глушковская О. В., Брагин Д. Е. Анодная транскраниальная стимуляция постоянным током увеличивает церебральный кровоток, оксигенацию тканей и снижает неврологические нарушения у мышей в норме и в позднем посттравматическом периоде черепно-мозговой травмы // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2018. Т. 18, вып. 3. С. 354–360. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-354-360

#### **Cite this article as:**

Bragina O. A., Semyachkina-Glushkovskaya O. V., Bragin D. E. Anodal Transcranial Direct Current Stimulation Increases Cerebral Blood Flow, Tissue Oxygenation and Improves Neurological Functions in Intact Mice and in the Late Posttraumatic Period of Traumatic Brain Injury. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 3, pp. 354–360 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-354-360