

# Использование моделей ишемического инсульта у кроликов в биомедицинских исследованиях

Ю.И. Сысоев<sup>1,2</sup>, В.А. Приходько<sup>1</sup>, Д.Ю. Ивкин<sup>1</sup>, С.В. Оковитый<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

## РЕЗЮМЕ

Разработка экспериментальных моделей ишемического инсульта, позволяющих эффективно транслировать полученные результаты с лабораторных животных на человека, является важной задачей современной нейрофармакологии. Ввиду того, что новые лекарственные средства с нейрорепротекторным действием, показавшие активность в экспериментах на грызунах, не обладают должной эффективностью у людей, возможным решением проблемы может стать использование крупных лабораторных животных. Среди последних наиболее доступными для лабораторий являются кролики. Гирэнцефалический тип строения головного мозга и наличие значительного объема белого вещества сближают их с человеком. В статье приведены сведения об основных методах моделирования ишемического инсульта у кроликов. Важными аспектами являются выбор породы, возраста и пола используемых животных, способа анестезии, а также критериев оценки их функционального состояния после перенесенной ишемии головного мозга.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Ишемический инсульт; кролики; биомоделирование.

# Rabbit models of ischemic stroke in biomedical research

Yuriy I. Sysoev<sup>1,2</sup>, Veronika A. Prikhodko<sup>1</sup>, Dmitriy Y. Ivkin<sup>1</sup>, Sergey V. Okovityi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Saint Petersburg Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Institute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

## ABSTRACT

The development of experimental models of ischemic stroke allowing for effective translation of results from animal studies to humans is an important task of modern neuropharmacology. Due to the fact that new drugs with neuroprotective properties that have shown activity in rodents most often turn out to be not effective enough in humans, the use of larger laboratory animals may become a viable solution. Among the latter, rabbits are the most accessible species for laboratories. Since they have gyrencephalic brains and a significant amount of white matter, they can be considered to be highly similar to humans. In the present review, we discussed the main methods of ischemic stroke modelling in rabbits. The breed, age and sex of the animals, anesthesia methods as well as criteria for functional state assessment after cerebral ischemia are the issues that should be addressed before the start of the study.

## KEYWORDS

Brain ischemia; rabbits; disease models, animal.

## Введение

Ишемический инсульт (ИИ) – форма острого нарушения мозгового кровообращения, характеризующаяся недостаточностью кровоснабжения головного мозга, сопровождающаяся повреждением его тканей и нарушением его функций. Являясь второй по частоте причиной смерти [1] и одной из ведущих причин тяжелой и стойкой инвалидизации во всем мире [2], инсульт представляет собой важную медицинскую, социальную и экономическую проблему.

Одной из задач является разработка экспериментальных моделей ИИ, которые были бы максимально приближены к реальным условиям, отличались хорошей воспроизводимостью и позволяли с достаточной точностью транслировать полученные результаты на человека. На сегодняшний день наибольшее распространение имеют модели ИИ на грызунах: крысы [3], мыши [4], монгольские песчанки [5]. Эти виды отличаются доступностью и низкой стоимостью, возможностью осуществления генетических модификаций и высоким уровнем воспроизводимости результатов [6]. Однако данные, полученные в экспериментах с использованием грызунов, не могут быть достаточно уверенно экстраполированы на человека, что объясняется существенными анатомическими и физиологическими различиями. Так, многие вещества, продемонстрировавшие нейропротекторные свойства в условиях ИИ у мышей и крыс, оказались неэффективными при применении у людей [7].

С точки зрения клинической значимости, значительное преимущество имеют крупные лабораторные животные: собаки [8], кошки [9], свиньи [10], овцы [11], макаки-резусы [12] или кролики. Гирэнцефалический тип строения мозга и наличие значительного объема белого вещества сближают их с человеком, а возможность воспроизведения коморбидных патологий позволяет проводить исследования широкого спектра лекарственных средств [13].

### Методы моделирования ишемического инсульта у кроликов

Экспериментальные модели ИИ могут быть классифицированы по объему хирургического вмешательства (требующие или не требующие краниотомии), объему ишемии (фокальная или глобальная), ее обратимости (перманентная или с реперфузией), а также способу ее индукции [14]. Ввиду своей клинической значимости модели фокальной и мультифокальной ишемии являются более востребованными.

Наиболее распространенными способами индукции ишемии головного мозга у кроликов, не требующими проведения краниотомии, являются эмболизация средней мозговой артерии (СМА) [15-18], эндovasкулярная окклюзия [19-21] и фотохимически индуцированный тромбоз [22].

К моделям ИИ, требующим проведения краниотомии, относится прямая хирургическая окклюзия мозговых артерий, выполняемая путем клипирования [23] или наложения лигатур [24].

## 1. Модели эмболизации СМА

Данная группа экспериментальных моделей наиболее точно воспроизводит ишемический инсульт у человека, так как подавляющее большинство случаев ИИ имеет именно тромбоемболическую этиологию [1]. В условиях тромботической окклюзии артерий головного мозга возможно исследование не только средств с нейропротекторной активностью [15, 18], но и тромболитических агентов [17, 25].

Для эмболизации мозговых сосудов могут быть использованы как кровяные сгустки, полученные из крови животных *in vitro* [15, 16, 26], так и эмболы синтетической природы, полученные искусственным путем [27]. Наиболее часто в лабораторной практике используют аутологичные тромбы, полученные непосредственно из крови животных [15, 26, 28]. Именно на модели эмболизации СМА у кроликов тромбами малого размера в свое время была доказана эффективность применения рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (алтеплазы) в качестве тромболитического средства в остром периоде эмболического инсульта [25]. На сегодняшний день это средство остается основным для проведения патогенетической фармакотерапии ИИ [29, 30].

### 1.1. Эмболизация красными тромбами

Для получения аутологичных тромбов малого размера у одного или нескольких экспериментальных животных забирают кровь и выдерживают ее в течение нескольких часов при температуре 37 °С. Образовавшийся сгусток измельчают и суспендируют в фосфатном буферном растворе с добавлением бычьего сывороточного альбумина [28]. Полученные вышеописанным образом тромбы содержат большое количество эритроцитов и поэтому называются «красными». Для облегчения их визуализации в кровяном русле к суспензии могут быть добавлены микросферы, меченные радиоактивным изотопом кобальта-57 [18].

Другой способ получения аутологичных тромбов из крови животных заключается в выскабливании внутренней оболочки задней ушной артерии при помощи модифицированной иглы. После выскабливания на сосуд накладывают свободную лигатуру, что способствует снижению скорости кровотока и формированию кровяного сгустка. Через 24 часа участок артерии со тромбом удаляют, тромб отделяют от стенки и обрезают до нужного размера [31].

В ряде экспериментов введение тромбов осуществляли трансфеморально через катетер, удаленный после получения ангиографического подтверждения окклюзии СМА. При этом вся процедура проводилась под наркозом [31, 32].

В своих работах Larchak и др. отмечают, что использование анестетиков, а также анальгетиков и противовоспалительных средств в подобных исследованиях нежелательно [33], так как они могут оказывать влияние на течение ишемического каскада [34]. Они неоднократно использовали методику эмболизации СМА у

кроликов, находившихся в сознании и не нуждавшихся в респираторной и иной поддержке. Это давало возможность наблюдать последствия ишемизации с самого начала введения тромбов [18, 26, 33]. Для этого наркотизированным кроликам осуществляли доступ к правой внутренней сонной артерии. При этом на внешнюю и общую сонные артерии накладывали лигатуры. В общую сонную артерию вводили катетер и закрепляли его при помощи лигатур. Разрез зашивали таким образом, чтобы через него был доступен дистальный конец катетера, который заполняли раствором гепарина и закрывали [33]. До проведения процедуры эмболизации кролики должны были полностью выйти из наркоза. После подготовки животных через катетер вводили 1 мл суспензии кровяных сгустков, промывали его стерильным физиологическим раствором и лигировали близко к шее, оставляя небольшой кончик [33].

## 1.2. Эмболизация белыми тромбами

В клинической практике большое количество случаев ИИ, особенно вследствие эмболии сонной артерии, оказываются вызваны не «красными», а «белыми» тромбами, названными так ввиду высокого содержания в них тромбоцитов и фибрина [35]. Фибрин повышает способность тромбов к ретракции, а это, в свою очередь, препятствует проникновению молекул тромболитика во внутренние участки тромба и может отрицательно сказываться на эффективности тромболитической терапии [36].

Kirchhof и др. исследовали возможности использования «белых» тромбов для моделирования ИИ у кроликов и провели сравнение их с «красными» тромбами [37]. Для получения фибринового сгустка стандартизированную плазму крови смешивали с раствором тромбина. Диаметр полученных «белых» тромбов составлял 0,7–0,75 мм, а «красных» – 1,02–1,07 мм. Перед использованием тромбы обоих видов выдерживали в течение 20 часов при комнатной температуре для завершения ретракции. Было отмечено, что «белые» тромбы в среднем уменьшали свой объем в 7,8 раз больше, чем «красные», а также имели более твердую консистенцию. Эмболизацию СМА проводили через катетер, проведенный от левой бедренной артерии до правой внутренней сонной [37].

Результаты ангиографического исследования подтвердили наличие перманентной окклюзии СМА у 100% кроликов, которым были введены «белые» тромбы, в то время как «красные» к моменту вскрытия подверглись лизису практически у половины животных. Площадь зоны инфаркта была сопоставима в обеих группах (26% против 27%), но только в группе, получившей «красные» тромбы, наблюдались случаи внутричерепного кровоизлияния [37].

Данная модификация тромбоэмболической модели ИИ отличается высокой воспроизводимостью и позволяет контролировать как локализацию окклюзии, так и объем окклюдированного сгустка. Ее главным достоинством является возможность получения стабильных «белых» тромбов известного диаметра, что

значительно снижает вероятность неверного их расположения при введении в сосудистое русло [37].

## 1.3. Эмболизация синтетическими микро- и макросферами

Альтернативой кровяным сгусткам могут служить синтетические макро- (300–900 нм в диаметре) [32] или микросферы (20–50 нм в диаметре) [38]. Если первые позволяют получить крупные очаги ишемии, то во втором случае вследствие окклюзии сосудов мягкой оболочки мозга наблюдается формирование множественных мелких зон инфаркта [38, 39]. Сообщается об успешном использовании для воспроизведения острой церебральной ишемии у кроликов стеклянных бусин [39], декстрановых микросфер [40] и серебряных шариков [41].

Принципиальным отличием микросфер от тромбов является тот факт, что первые не подвергаются лизису и, следовательно, вызывают состояние перманентной ишемии [38]. Следует учитывать, что, ввиду своего состава, синтетические эмболы могут провоцировать местные воспалительные реакции со скоплением лейкоцитов в периваскулярном пространстве и выходом их в кровяное русло [39].

## 1.4. Влияние параметров эмболов на результат ишемизации

Основным параметром эмбола любой природы является его размер, так как именно размер определяет его конечную локализацию в сосудистом русле и, следовательно, локализацию очага инфаркта [38]. Более мелкие тромбы способны достигать дистальной части внутренней сонной артерии, закупорка которой ведет к формированию обширной зоны инфаркта, включающей базальные ганглии, что сопровождается высоким процентом летальности [37].

Аутологичные тромбы могут иметь длину от 1,0 до 4,0 мм в соответствии с предполагаемым местом окклюзии и особенностями воспроизводимой патологии. Синтетические микросферы с диаметром до 100 нм позволяют получить множественные мелкие очаги инфаркта, в то время как макросферы, имеющие диаметр 700–900 нм, подходят для моделирования ИИ, вызванного окклюзией крупных сосудов мозга нерастворимыми холестериновыми тромбами [27].

Для достижения максимального постоянства площади очага инфаркта рекомендуется проводить окклюзию проксимального участка внутренней сонной артерии, для чего размер тромбов должен находиться в определенном диапазоне. Kirchhof и др. рекомендуют использовать для кроликов фибриновые тромбы, обладающие диаметром от 1,02 до 1,07 мм и, вместе с этим, достаточной ригидностью. В работе авторы также подчеркивают, что число таких тромбов не должно превышать двух во избежание их смещения с током крови по задней соединительной артерии [37]. Чрезвычайная важность количества и общего объема эмболов для тяжести повреждения тканей мозга проиллюстрирована в эксперименте Winding и др., где

введение 1 млн микросфер не вызывало у кроликов видимых неврологических нарушений, но введение 2 млн приводило к скорой гибели [40].

Еще одним важным параметром искусственных кровяных сгустков, используемых для эмболизации, является их возраст, определяющий вероятность тромбозиса. Так, свежие тромбы, полученные за 3–6 часов до введения, подвергаются тромбозису сравнительно легко, в то время как тромбы, выдержанные в течение трех суток, намного более устойчивы и могут быть использованы для создания условий перманентной ишемии головного мозга [27].

## 2. Эндоваскулярная окклюзия СМА

Эта малоинвазивная модель обратимой фокальной ишемии, впервые описанная Koizumi и др. в 1986 году для крыс, предполагает введение окклюдированной нити в экстракраниальный участок внутренней сонной артерии с дальнейшим продвижением до места отхождения СМА [42].

Kong с соавторами провели оптимизацию изначальной методики с учетом анатомо-физиологических особенностей кроликов. Наилучшие результаты были получены при одновременном введении двух окклюдированных нитей с диаметром кончика 0,51–0,55 мм на глубину 50–60 мм по ходу внутренней сонной артерии. Поскольку наиболее частым нежелательным явлением при проведении эндоваскулярной окклюзии СМА является интракраниальное кровоизлияние, авторы рекомендуют использовать нити диаметром не менее 0,50 мм и осуществлять их введение максимально аккуратно, избегая возможного нарушения целостности артерий [43].

Nabavi и др. осуществляли окклюзию СМА при помощи покрытой силиконом нейлоновой нити диаметром 0,3–0,4 мм. Нить вводили во внешнюю сонную артерию при помощи катетера и продвигали интракраниально на 50–60 мм. Введение нити продолжали до того момента, как ощущали слабое сопротивление сосудистой стенки. Когда необходимый участок СМА был достигнут, нить во избежание дислокации закрепляли у места ее входа во внешнюю сонную артерию и зашивали разрез. Полученные у животных очаги инфаркта значительно различались по площади (от 7 до 40% площади поверхности ипсилатерального полушария), но имели постоянную локализацию и затрагивали латерально-каудальные участки височной доли, расположенные кортикально и субкортикально. В мозге кролика, у которого окклюдированная нить была непреднамеренно введена во внутреннюю сонную артерию вместо СМА, очагов ишемического повреждения на гистологическом исследовании не обнаружено, что указывает на принципиальную важность соответствия окклюдера и окклюдруемого сосуда [44].

Yang и др. провели оценку различий между силиконизированной нитью и ангиографическим проводником (англ. guide wire), используемыми для закупорки СМА [21]. Окклюдеры обоих видов длиной 5–6 см целиком

вводили в левую переднюю мозговую артерию, кровоснабжающую СМА, и закрепляли у места введения. Диаметр проводника и нити, с учетом покрытия ее силиконом, составлял 0,53 мм. Реперфузию ишемизированных областей осуществляли через два часа после введения окклюдера. Авторы отмечают, что неврологический дефицит в группе, где использовали ангиографический проводник, был более выражен как на первый, так и на третий день после проведения ишемизации. При использовании проводника в качестве окклюдера объем очага инфаркта был значительно больше, чем при использовании нити (32% против 25% объема ипсилатерального полушария). При этом в первом случае данные имели существенно меньший разброс [21].

## 3. Модели фототромбоза

Данная модель, предложенная в 1985 году Watson и др. для крыс, основана на транскраниальной активации фоточувствительного вещества, введенного в системный кровоток [45]. Будучи подвергнутыми локальному воздействию света определенной длины волны, молекулы такого вещества переходят в возбужденное состояние и вступают в реакцию с кислородом, что приводит к образованию свободных радикалов и синглетного кислорода, а последнее, в свою очередь, к локальному повреждению эндотелия СМА и образованию тромба в ее просвете. Отмечается, что данная модель позволяет получить у животных участки инфаркта регулируемой локализации и площади, что способствует стандартизации условий проведения эксперимента и повышению воспроизводимости его результатов [45].

Другими достоинствами метода являются сравнительная простота и малоинвазивность, низкая смертность животных, а также пригодность для воспроизведения условий хронической ишемии головного мозга путем многократного повторения процедуры в щадящем режиме [46].

Yang и др. для воспроизведения фокальной церебральной ишемии у кроликов использовали краситель бенгальский розовый, который вводили в краевую ушную вену. После того как глаза у животного окрашивались в соответствующий розовый цвет, на предварительно подготовленный участок черепа подавали в течение 30 минут зеленый свет с длиной волны 540 нм и интенсивностью 600 мВт/см<sup>2</sup>. Гистоморфологический анализ очага ишемии продемонстрировал набухание и вакуолизацию цитоплазмы, а также каролизис и кариопикноз в нейронах и клетках глии [22].

## 4. Трансорбитальная окклюзия СМА

Методика прямой окклюзии СМА у кроликов была предложена Yamamoto и соавторами в 1985 году [23]. После энуклеации правого глаза выполнялся трансорбитальный доступ к СМА, окклюзия которой осуществлялась путем клипирования. Формирование участка ишемического поражения было постепенным и занимало около 8 часов, что может быть объяснено наличием у кроликов развитого коллатерального кро-

вотока. Путем дополнительной окклюзии внутренней сонной, задней соединительной, парных или непарной задней мозговой артерии авторам удалось сократить время, необходимое для формирования зоны инфаркта, до часа. Данная методика может быть использована для моделирования медленно прогрессирующей хронической ишемии головного мозга [23].

Meуer с соавторами получили результаты, свидетельствующие в пользу адекватности вышеописанного метода для воссоздания условий фокальной церебральной ишемии. Повреждение тканей мозга вследствие сниженной перфузии сопровождалось немедленным уменьшением внутриклеточного рН и развитием глубокого ацидоза. На электроэнцефалограммах (ЭЭГ) через четыре часа после проведения окклюзии у всех животных отмечалось выраженное уменьшение амплитуд ритмов. На гистологических срезах наблюдались ранние морфологические признаки ишемического повреждения клеток, такие как очаговый гиперхроматоз и уменьшение четкости контуров клеточных и ядерных мембран. Кроме этого, расширение интерстициального пространства между нейронами и глиальными клетками указывало на начало формирования отека мозга [47].

Wakayama и др. использовали аналогичную методику, но, в отличие от Yamamoto и Meуer, лигировали СМА [24].

Основным достоинством данной модели является возможность проведения окклюзии СМА на разных ее участках, что позволяет более избирательно ишемизировать различные участки головного мозга.

### Выбор породы, пола и возраста кроликов

Кролики (*Oryctolagus cuniculus*) относятся к отряду зайцеобразных (*Lagomorpha*), семейству зайцевых (*Leporidae*). Животные отличаются высокой плодовитостью, быстрым ростом и развитием, отсутствием сезонности репродуктивных циклов. Они чрезвычайно востребованы в медико-биологических экспериментах: физиологических, токсикологических и фармакологических, в особенности требующих проведения хирургических вмешательств [48].

Большинство зарубежных исследований, в том числе касающихся моделирования инсульта на кроликах, проводятся на животных породы новозеландская белая [18, 26, 28, 33], появившейся в середине XX века. В то же время наиболее популярной породой кроликов в РФ при проведении доклинических исследований является советская шиншилла, выведенная в 1963 году. На ее разведение ориентировано большинство отечественных питомников лабораторных животных. Поэтому актуальными вопросами являются возможность использования кроликов породы советская шиншилла при моделировании инсульта, а также выявление различий между двумя породами, выведенными на основе пород, имеющих кровь фландр, появившегося в XVI веке в Бельгии от патгонских кроликов и некоторых других, в частности от серебристо-серых.

Наличие примеси крови фландр позволяет отнести обе породы к первой генетической группе [49]. По

типу телосложения советская шиншилла относится к мезосомному типу, а новозеландская белая – к эйрисомному типу. Однако данное деление неоднородно по возрасту и полу и довольно условно [50].

Породы имеют краниологические особенности. Новозеландская белая относится к короткоголовым (также широкоголовым и широколобым), тогда как советская шиншилла – к длинноголовым. Прочие различия касаются, в первую очередь, экстерьера, производительности и молочности, т. е. не могут оказывать влияние на результаты экспериментов по моделированию инсульта [51].

Морфологическое созревание коры у кролика происходит к 10–15 дню со дня рождения (цитоархитектоника коры к этому времени приобретает вид, свойственный взрослому животному). К этому же сроку устанавливается биохимическое и электроэнцефалографическое созревание коры. Традиционно исследования хирургического профиля проводят на половозрелых самцах массой 2,5–3,5 кг, обычно менее устойчивых к ишемии, чем самки (как, например, у крыс [52]) [53].

### Используемый наркоз

Выбор оптимального наркозного средства для проведения хирургических манипуляций на кроликах осложняется дополнительными факторами. Во-первых, у данного вида высока устойчивость различных рефлексов к действию анестетиков. Во-вторых, широта диапазона между наркозной и летальной дозой у кроликов ниже, чем у кошек и собак. Также у этих животных выражена индивидуальность реакций на анестезирующие средства [54].

В большинстве описанных исследований в качестве наркоза для кроликов использовали либо только изофлуран (5% для введения в наркоз и 3% для поддержания наркоза) [18, 26, 28, 33], либо, после предварительного введения инъекционных анестетиков, например кетамина (в/м, 30 мг/кг) и ксилазина (в/м, 3–5 мг/кг), изофлуран (2%) [16, 19, 20]. Несомненным достоинством изофлурана как средства для ингаляционной анестезии является возможность управлять глубиной наркоза, тем самым снижая летальность во время операции. К недостаткам можно отнести кратковременный период апноэ во время фазы индукции, сопровождающийся умеренной гиперкапнией и ацидозом [55].

Необходимость иметь в лаборатории оборудование для ингаляционного наркоза значительно усложняет возможность проведения экспериментов на кроликах. Решением проблемы может быть использование средств для инъекционного наркоза. В одних исследованиях авторы использовали натрия пентобарбитал (в/в, 20 мг/кг) [21, 22], в других – уретан (путь введения не был указан, 1 г/кг).

Однако следует учитывать, что пентобарбитал натрия изменяет тонус вагальной иннервации, что во время операции будет причиной изменения ритма сердца и

артериального давления [56]. Кроме того, для работы с данным наркозным средством необходимо специальное разрешение и соблюдение особых условий хранения.

Уретан в данном случае имеет заметное преимущество, так как при использовании у лабораторных животных не оказывает влияния на сердечно-сосудистую, а также дыхательную системы [57]. Следует учитывать, что это вещество обладает канцерогенными свойствами, что, в большей степени, имеет значение для персонала, работающего с ним [58]. Также стоит отметить, что уретановый наркоз может длиться до 10 часов [57], что значительно усложняет использование некоторых моделей инсульта.

В изученной нами литературе не встречается примеров применения тилетамин/золазепам и ксилазина при моделировании ишемического инсульта у кроликов. Однако имеются данные, что при их комбинированном внутримышечном введении наркоз наступает в течение трех минут и длится около часа, о чем свидетельствовала потеря ушного и pedalного рефлексов [59]. Поскольку тилетамин/золазепам и ксилазин являются наиболее доступными из всех перечисленных выше анестетиков, их валидация при моделировании ишемических повреждений головного мозга у крупных лабораторных животных, в том числе и у кроликов, представляет методический интерес. Следует учитывать, что приведенная комбинация может быть нефротоксичной [59] и снижать частоту дыхания и сердечных сокращений [60].

При моделировании у лабораторных животных патологий, сопровождающихся гибелью нервных клеток, особенно важно учитывать возможность влияния средств для наркоза на течение патологического процесса. Например, у крыс способность оказывать нейропротекторное действие на модели ишемического инсульта была показана для хлоралгидрата и тилетамин/золазепам [61]. Аналогично в исследовании на грызунах изофлуран снижал выраженность повреждения головного мозга [62]. Чуть позже этот же эффект был продемонстрирован и на кроликах [15].

В связи с этим, среди описанных нами моделей наибольшую ценность для трансляционной медицины имеют исследования, в которых тромб вводят через катетер ненаркотизированному животному. Наркоз же используется только для введения катетера в артерию и его последующей фиксации [18, 26, 33].

## Методы оценки функционального состояния кроликов после ишемии

### 1. Балльные шкалы

Наиболее простым способом оценки состояния кроликов после инсульта являются балльные шкалы [16, 25, 28, 63, 64], являющиеся адаптацией Шкалы тяжести инсульта Национальных институтов

здоровья США (NIHSS), используемой в клинической практике для пациентов [65].

В исследовании Zivin et al. авторы оценивали неврологическую функцию у животных по 3-балльной шкале:

- 1 балл – нормальная активность;
- 2 балла – наличие объективных нарушений (например, выраженное снижение спонтанной активности, неспособность к стоянию, нарушение координации движений или нистагм);
- 3 балла – гибель животного [25].

Чуть позже другими авторами эта система оценки была несколько модифицирована:

- 0 – норма;
- 1 – нарушения в виде паралича конечностей, наклона головы или нистагма;
- 2 – больше двух признаков из предыдущего пункта или наличие судорог;
- 3 – гибель [15].

В другом исследовании [16] оценка состояния кроликов оценивалась по девяти пунктам по ранее предложенной шкале NAS (Neurological assessment score) [63, 64] и включала в себя оценку общей активности, постуральных рефлексов, рефлексов разгибания передних и задних конечностей и др. При этом максимальная возможная сумма баллов была равна 18 и обозначала гибель животного.

### 2. Нейрофизиологические методы

Кролики, ввиду крупных размеров по сравнению с грызунами, являются удобными объектами для электрофизиологических исследований. Многими авторами для оценки функционального состояния головного мозга во время или после ишемии с успехом применялись методы электроэнцефалографии (ЭЭГ), а также вызванных потенциалов (ВП) [24, 66-69].

Например, Farias и др. на модели ишемии-гипоксии у кроликов использовали метод ЭЭГ с определением изоэлектричности энцефалограммы (по протоколу исследования – через пять минут после ее начала, сразу после реперфузии/реоксигенации, вводили изучаемое соединение – фруктозо-1,6-дифосфат (ФДФ)). В результате группа кроликов, получавшая ФДФ, имела более ранние сроки восстановления электрической активности головного мозга по сравнению с контрольной группой. Важно, что этот положительный эффект коррелировал со снижением смертности и улучшением гистоморфологической картины головного мозга [68].

Scavini и др. до эмболизации и спустя час после нее записывали ЭЭГ над областями двигательной, соматосенсорной и зрительной коры. Спектральный анализ показал, что ишемия приводила к билатеральному увеличению индекса дельта-ритмов и снижению активности всех остальных диапазонов. При изучении соматосенсорных ВП (ССВП), вызванных поочередной стимуляцией левого и правого срединных нервов, у этих животных отсутствовали пики, характеризующие кортикальные ответы, что

свидетельствовало о повреждении коры головного мозга [69].

Другими авторами на модели неполной глобальной ишемии у кроликов было показано уменьшение амплитуд пиков N1 и P2 ССВП (вызванных стимуляцией седалищного нерва), возникающее на фоне ишемии, с последующим постепенным восстановлением спустя 10–20 минут после реперфузии [66]. Wakayama и др. показали изменения слуховых ВП, возникающие у кроликов на модели окклюзии средней мозговой артерии [24].

### 3. Биохимические методы анализа

В исследовании Chen и др. для оценки нейропротекторного действия изофлурана авторы оценивали концентрации белков S100B и нейрон-специфической енолазы (neuron specific enolase, NSE) в плазме крови методом ELISA до введения тромба и спустя 72 часа после эмболии [15]. В-изоформа белка S100 экспрессируется в астроцитах [70], и ее количество в крови увеличивается у пациентов с ишемическим инсультом. Считается, что это является индикатором нарушения целостности гематоэнцефалического барьера [71, 72]. Нейрон-специфическая енолаза экспрессируется в нейронах и, при обнаружении ее в крови, является маркером повреждения головного мозга [73].

Было установлено, что у кроликов на третий день после ишемии головного мозга происходит увеличение концентрации белка S100B (но не NSE), в то время как в группе изофлурана данный показатель приближался к показателям до ишемии [15]. Полученные результаты коррелировали с данными морфологических исследований и балльной оценки степени неврологического дефицита [15].

В другом исследовании [18] авторы оценивали нейропротекторную активность производного куркумина, вещества CNB-001, продемонстрировавшего нейропротекторные эффекты *in vitro* [74]. Это соединение вводили внутривенно спустя час после ишемии. Затем, через шесть часов, осуществляли эвтаназию животных и сбор ипсилатеральной ишемизированной коры головного мозга для последующего биохимического анализа. Методом ELISA определяли концентрацию нейротрофического фактора мозга (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF), а также нейротрофина-3 (NT-3). Ранее было показано участие BDNF и NT-3 в нейрогенезе, нейропластичности, а также синаптической передаче [75, 76]. В результате было установлено, что ишемическое повреждение у кроликов приводит к снижению концентрации BDNF в коре головного мозга. При этом введение CNB-001 спустя час после ишемии способствует достоверному увеличению уровня данного трофического фактора. Аналогичный положительный эффект был продемонстрирован с использованием МРТ-диагностики [18].

### Оценка объема повреждения головного мозга

Традиционно у кроликов используют два основных метода определения объема повреждения головного

мозга после инсульта. В первом случае применяют метод магнитно-резонансной томографии (МРТ) для получения диффузно-взвешенного изображения [18, 20, 21]. В острый период после инсульта зона поражения определяется как повышение сигнала (гиперинтенсивность) по отношению к интактным участкам мозга за счет развития цитотоксического отека [18, 20, 21].

Второй способ заключается в том, что у животных после эвтаназии незамедлительно извлекают мозг и замораживают при температуре – 80 °С в течение 10 минут. После этого делают корональные срезы толщиной 2–5 мм и помещают их в 1–2% раствор 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) при температуре 37 °С в течение 30 минут с последующей фиксацией в забуференном формалине. Фиксированные срезы фотографируют, и объем повреждения высчитывают с помощью любой доступной программы анализа изображений [15, 16, 21, 22].

Несмотря на то, что второй метод достаточно трудоемкий и позволяет определять объем повреждения у тестируемых животных только один раз, его сравнение с методом МРТ у крыс показало, что оба способа оценки очага повреждения дают близкие значения [77].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на сегодняшний день у кроликов используют четыре модели ишемического инсульта. Все они основаны преимущественно на ограничении кровотока в бассейне СМА. Для этого применяют методы ее эмболизации, эндovasкулярной и трансорбитальной окклюзии, а также фототромбоза.

В литературе представлено большое разнообразие способов окклюзии СМА («белые» и «красные» тромбы, искусственные микро- и макросферы, окклюдеры и др.). Выделить отдельные из них как наиболее эффективные не представляется возможным, так как преимущества каждого определяются целями и задачами конкретного исследования.

Наиболее подходящие порода, пол и возраст кроликов для моделирования ишемического инсульта еще не определены, поскольку на сегодняшний день нет исследований, в которых бы поднимался данный вопрос. На основании опыта работы с мелкими лабораторными животными можно отметить, что пол и возраст могут играть существенную роль в течении и функциональном исходе ишемии головного мозга.

В большинстве описанных методик ишемию головного мозга вызывали у наркотизированных животных. Однако ряд исследований показал, что многие наркотические средства оказывают влияние на ход ишемического каскада, тем самым искажая результаты эксперимента. Ввиду этого особый интерес представляет модель, предложенная Larchak и др., при которой искусственные тромбы вводят через заранее подготовленный катетер животному в бодрствующем состоянии. В этом случае условия эксперимента оказываются максимально приближенными к реальной

клинической ситуации и получаемые данные не искажаются эффектами наркотических средств.

Несмотря на то, что для кроликов (в отличие от грызунов) не предусмотрено поведенческих и функциональных тестов, таких как «Открытое поле» или «Приподнятый крестообразный лабиринт», существуют способы объективной оценки возникающего у них неврологического дефицита. К ним можно отнести нейрофизиологические методы (ЭЭГ, ВП и др.), а также биохимические исследования (например, определение уровня белков S100B и BDNF в плазме крови). Использование балльных шкал оценки

неврологического статуса, данных МРТ и гистологических исследований позволяют дополнить и подтвердить данные, получаемые вышеуказанными методами.

Таким образом, способы моделирования ишемического инсульта у кроликов во многом схожи с таковыми у грызунов. При этом возможности выбора методов ишемизации значительно шире. Благодаря этому у кроликов можно воспроизводить различные клинические ситуации, что в совокупности с гирэнцефалическим строением их головного мозга повышает вероятность успешной трансляции результатов на человека.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Donkor E. Stroke in the 21st century: A snapshot of the burden, epidemiology, and quality of life. *Stroke Res Treat.* 2018;2018: 1-10. doi: 10.1155/2018/3238165
2. Murray C, Vos T, Lozano R et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet.* 2012;380(9859): 2197-2223. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61689-4
3. Торяник И.И., Колесник В.В. Унифицированный подход к созданию модели ишемического инсульта головного мозга в эксперименте на крысах линии Вистар // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. – 2010. – Т. 10. – №.4 (32). [Torianik II, Kolesnik VV. Unified approach in creation of cerebral ischemic stroke model in Wistar rats. *Aktual'ni problemi suchasnoi meditsini: Visnik ukrains'koi medichnoi stomatologichnoi akademii.* 2010;10(4): 155-159]
4. Maeda K, Hata R, Hossmann K. Regional metabolic disturbances and cerebrovascular anatomy after permanent middle cerebral artery occlusion in C57Black/6 and SV129 mice. *Neurobiol Dis.* 1999;6(2): 101-108. doi: 10.1006/nbdi.1998.0235
5. Ito U, Hakamata Y, Yamaguchi T, Ohno K. Cerebral ischemia model using mongolian gerbils — comparison between unilateral and bilateral carotid occlusion models. *Brain Edema XV.* 2013: 17-21. doi: 10.1007/978-3-7091-1434-6\_3
6. Kleinschnitz C, Fluri F, Schuhmann M. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des Devel Ther.* 2015: 3445. doi: 10.2147/dddt.s56071
7. Hoyte L, Kaur J, Buchan A. Lost in translation: taking neuroprotection from animal models to clinical trials. *Exp Neurol.* 2004;188(2): 200-204. doi: 10.1016/j.expneurol.2004.05.008
8. Jeon J, Jung H, Jang H et al. Canine model of ischemic stroke with permanent middle cerebral artery occlusion: clinical features, magnetic resonance imaging, histopathology, and immunohistochemistry. *J Vet Sci.* 2015;16(1): 75. doi: 10.4142/jvs.2015.16.1.75
9. García JH, Kalimo H, Kamijyo Y, Trump BF. Cellular events during partial cerebral ischemia. I. Electron microscopy of feline cerebral cortex after middle-cerebral-artery occlusion. *Virchows Arch B Cell Pathol.* 1977;25(3): 191-206
10. Zhang L, Cheng H, Shi J, Chen J. Focal epidural cooling reduces the infarction volume of permanent middle cerebral artery occlusion in swine. *Surg Neurol.* 2007;67(2): 117-121. doi: 10.1016/j.surneu.2006.05.064
11. Boltze J, Förschler A, Nitzsche B et al. Permanent middle cerebral artery occlusion in sheep: a novel large animal model of focal cerebral ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* 2008;28(12): 1951-1964. doi: 10.1038/jcbfm.2008.89
12. Ji X, Zhao B, Shang G et al. A more consistent intraluminal rhesus monkey model of ischemic stroke. *Neural Regen Res.* 2014;9(23): 2087. doi: 10.4103/1673-5374.147936
13. Sorby-Adams A, Vink R, Turner R. Large animal models of stroke and traumatic brain injury as translational tools. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* 2018;315(2): R165-R190. doi: 10.1152/ajpregu.00163.2017
14. Liu F, McCullough L. Middle cerebral artery occlusion model in rodents: methods and potential pitfalls. *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* 2011;2011: 1-9. doi: 10.1155/2011/464701
15. Chen F, Long Z, Yin J, Zuo Z, Li H. Isoflurane post-treatment improves outcome after an embolic stroke in rabbits. *PLoS ONE.* 2015;10(12): e0143931. doi: 10.1371/journal.pone.0143931
16. Culp W, Brown A, Lowery J, Arthur M, Roberson P, Skinner R. Dodecafluoropentane emulsion extends window for tPA therapy in a rabbit stroke model. *Mol Neurobiol.* 2015;52(2): 979-984. doi: 10.1007/s12035-015-9243-x

17. Hao C, Ding W, Xu X et al. Effect of recombinant human prourokinase on thrombolysis in a rabbit model of thromboembolic stroke. *Biomed Rep.* 2017. doi: 10.3892/br.2017.1013
18. Lapchak P, Boitano P, Bombien R et al. CNB-001, a pleiotropic drug is efficacious in embolized agyrencephalic New Zealand white rabbits and ischemic gyrencephalic cynomolgus monkeys. *Exp Neurol.* 2019;313: 98-108. doi: 10.1016/j.expneurol.2018.11.010
19. Arthur M, Brown A, Carlson K, Lowery J, Skinner R, Culp W. Dodecafluoropentane improves neurological function following anterior ischemic stroke. *Mol Neurobiol.* 2016;54(6): 4764-4770. doi: 10.1007/s12035-016-0019-8
20. English J, Hetts S, El-Ali A et al. A novel model of large vessel ischemic stroke in rabbits: microcatheter occlusion of the posterior cerebral artery. *J Neurointerv Surg.* 2014;7(5): 363-366. doi: 10.1136/neurintsurg-2013-011063
21. Yang J, Liu H, Liu R. A modified rabbit model of stroke: evaluation using clinical MRI scanner. *Neurol Res.* 2009;31(10): 1092-1096. doi: 10.1179/174313209x405100
22. Yang L, Liu W, Chen R et al. In Vivo Bioimpedance spectroscopy characterization of healthy, hemorrhagic and ischemic rabbit brain within 10 Hz–1 MHz. *Sensors.* 2017;17(4): 791. doi: 10.3390/s17040791
23. Yamamoto K, Yoshimine T, Yanagihara T. Cerebral ischemia in rabbit: a new experimental model with immunohistochemical investigation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* 1985;5(4): 529-536. doi: 10.1038/jcbfm.1985.80
24. Wakayama A, Graf R, Rosner G, Heiss WD. Deafferentation versus cortical ischemia in a rabbit model of middle cerebral artery occlusion. *Stroke.* 1989;20(8): 1071-1078. doi: 10.1161/01.str.20.8.1071
25. Zivin JA, Fisher M, DeGirolami U, Hemenway CC, Stashak JA. Tissue plasminogen activator reduces neurological damage after cerebral embolism. *Science.* 1985;230(4731): 1289-1292. doi: 10.1126/science.3934754
26. Lapchak PA, Daley JT, Boitano PD. A blinded, randomized study of L-arginine in small clot embolized rabbits. *Exp Neurol.* 2015;266: 143-146. doi: 10.1016/j.expneurol.2015.02.016
27. Culp WC, Woods SD, Brown AT et al. Three variations in rabbit angiographic stroke models. *J Neurosci Methods.* 2013;212(2): 322-328. doi: 10.1016/j.jneumeth.2012.10.017
28. Meyer DM, Chen Y, Zivin JA. Dose-finding study of phototherapy on stroke outcome in a rabbit model of ischemic stroke. *Neurosci Lett.* 2016;630: 254-258. doi: 10.1016/j.neulet.2016.06.038
29. Гусев Е.И., Гехт А.Б. Клинические рекомендации по проведению тромболитической терапии у пациентов с ишемическим инсультом. – М.: Москва, 2015. [Gusev EI, Gekht AB. Klinicheskie rekomendatsii po provedeniyu tromboliticheskoi terapii u patsientov s ishemicheskim insul'tom. Moscow: Moskva; 2015. (In Russ).]
30. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T et al. 2018 Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2018;49(3). doi: 10.1161/str.000000000000158
31. Feng L, Liu J, Chen J et al. Establishing a model of middle cerebral artery occlusion in rabbits using endovascular interventional techniques. *Exp Ther Med.* 2013;6(4): 947-952. doi: 10.3892/etm.2013.1248
32. Brown A, Woods S, Skinner R et al. Neurological assessment scores in rabbit embolic stroke models. *Open Neurol J.* 2013;7(1): 38-43. doi: 10.2174/1874205x01307010038
33. Lapchak P, Boitano P, de Couto G, Marbán E. Intravenous xenogeneic human cardiosphere-derived cell extracellular vesicles (exosomes) improves behavioral function in small-clot embolized rabbits. *Exp Neurol.* 2018;307: 109-117. doi: 10.1016/j.expneurol.2018.06.007
34. Kawaguchi M, Furuya H. Neuroprotective effects of anesthetic agents. *The Journal of Japan Society for Clinical Anesthesia.* 2009;29(4): 358-363. doi: 10.2199/jjsca.29.358
35. Jörgensen L, Torvik A. Ischaemic cerebrovascular diseases in an autopsy series Part 2. Prevalence, location, pathogenesis, and clinical course of cerebral infarcts. *J Neurol Sci.* 1969;9(2): 285-320. doi: 10.1016/0022-510x(69)90078-1
36. Blinc A, Kennedy SD, Bryant RG et al. Flow through clots determines the rate and pattern of fibrinolysis. *Thromb Haemost.* 1994;71(2): 230-235
37. Kirchhof K, Welzel T, Zoubaa S et al. New method of embolus preparation for standardized embolic stroke in rabbits. *Stroke.* 2002;33(9): 2329-2333. doi: 10.1161/01.str.0000027436.82700.73
38. Sommer CJ. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathol.* 2017;133(2): 245-261. doi: 10.1007/s00401-017-1667-0
39. Nagano H, Suzuki T, Hayashi M, Asano M. Cerebral microcirculatory changes after cerebral embolization induced by glass bead injection in rabbits. *Angiology.* 1992;43(8): 678-684. doi: 10.1177/000331979204300808
40. Winding O. Cerebral microembolization following carotid injection of dextran microspheres in rabbits. *Neuroradiology.* 1981;21(3): 123-126. <https://doi.org/10.1007/bf00339519>
41. Molnár L, Hegedüs K, Fekete I. A new model for inducing transient cerebral ischemia and subsequent reperfusion in rabbits without craniectomy. *Stroke.* 1988;19(10): 1262-1266. doi: 10.1161/01.str.19.10.1262

42. Koizumi J, Yoshida Y, Nishigaya K, Kanai H, Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema. Effect of recirculation of the blood flow after ischemia on post-ischemic brain edema. *Nosotchu*. 1989;11(1): 11-17. doi: 10.3995/jstroke.11.11
43. Kong LQ, Xie JX, Han H, Liu HD. Improvements in the intraluminal thread technique to induce focal cerebral ischaemia in rabbits. *J Neurosci Methods*. 2004;137(2): 315-319. doi: 10.1016/j.jneumeth.2004.03.017
44. Nabavi D, Cenic A, Henderson S et al. Perfusion mapping using computed tomography allows accurate prediction of cerebral infarction in experimental brain ischemia. *Stroke*. 2001;32(1): 175-183. doi: 10.1161/01.str.32.1.175
45. Watson BD, Dietrich WD, Busto R et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Ann Neurol*. 1985;17(5): 497-504. doi: 10.1002/ana.410170513
46. Macrae IM. Preclinical stroke research – advantages and disadvantages of the most common rodent models of focal ischaemia. *Br J Pharmacol*. 2011;164(4): 1062-1078. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01398.x
47. Meyer FB, Anderson RE, Sundt TM, Yaksh TL. Intracellular brain pH, indicator tissue perfusion, electroencephalography, and histology in severe and moderate focal cortical ischemia in the rabbit. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1986;6(1): 71-78. doi: 10.1038/jcbfm.1986.9
48. Чадаев В.Е. Модельные объекты в медицине и ветеринарии // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2012. – Т. 2. – №.3. – С. 140–145. [Chadaev VE. Model'nye ob'ekty v meditsini i veterinarii. *Visnik problem biologii i meditsini*. 2012;2(3);140-145. (In Ukrainian).]
49. Нигматуллин Р.М. Происхождение и генетическая классификация пород кроликов // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2007. – Т. 11. – №.1. – С. 221–227. [Nigmatullin RM. The origin and genetic classification of rabbit breeds. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2007; 11 (1): 221–227. (In Russ).]
50. Балакирев Н.А., Нигматуллин Р.М. Межпородная и внутривидовая разнотипность кроликов и ее роль в селекции // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2014. – Т. 16. – №.4/2. – С. 1032–1039. [Balakirev NA, Nigmatullin RM. Interbreed and intrabreed variability in rabbits and its role in breeding. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2012; 15 (4): 1032–1039. (In Russ).]
51. Балакирев Н.А., Нигматуллин Р.М., Сушенцова М.А. Краниологические особенности кроликов разных пород // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2017. – №.7. – С. 38–41. [Balakirev NA, Nigmatullin RM, Sushentsova MA. Craniological peculiarities of different breeds of rabbits. *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya*. 2017; (7): 38–41. (In Russ).]
52. Alkayed NJ, Harukuni I, Kimes AS et al. Gender-linked brain injury in experimental stroke. *Stroke*. 1998;29(1): 159-166. doi: 10.1161/01.str.29.1.159
53. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Справочник. / Под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. – СПб.: ЛЕМА, 2013. [Makarov VG, Makarova MN, editors. *Fiziologicheskie, biokhimicheskie i biometricheskie pokazateli normy ehksperimental'nykh zhivotnykh*. Spravochnik. Saint Petersburg: LEMA; 2013. (In Russ).]
54. Peeters ME, Gil D, Teske E et al. Four methods for general anaesthesia in the rabbit: a comparative study. *Lab Anim*. 1988;22(4): 355-360. doi: 10.1258/002367788780746197
55. Flecknell PA, Roughan JV, Hedenqvist P. Induction of anaesthesia with sevoflurane and isoflurane in the rabbit. *Lab Anim*. 1999;33(1): 41-46. doi: 10.1258/002367799780578516
56. Murthy VS, Zagar ME, Vollmer RR, Schmidt DH. Pentobarbital-induced changes in vagal tone and reflex vagal activity in rabbits. *Eur J Pharmacol*. 1982;84(1-2): 41-50. doi: 10.1016/0014-2999(82)90155-8
57. Field KJ, White WJ, Lang CM. Anaesthetic effects of chloral hydrate, pentobarbitone and urethane in adult male rats. *Lab Anim*. 1993;27(3): 258-269. doi: 10.1258/002367793780745471
58. Field KJ, Lang CM. Hazards of urethane (ethyl carbamate): a review of the literature. *Lab Anim*. 1988;22(3): 255-262. doi: 10.1258/002367788780746331
59. Karasu A, Altuğ N, Aslan L et al. Evaluation of the anesthetic effects of xylazine-ketamine, xylazine-tiletamine-zolazepam and tiletamine-zolazepam using clinical and laboratory parameters in rabbits. *Med Weter*. 2018;74(10): 646-652. doi: 10.21521/mw.6119
60. Popilskis SJ, Oz MC, Gorman P et al. Comparison of xylazine with tiletamine-zolazepam (Telazol) and xylazine-ketamine anesthesia in rabbits. *Lab Anim Sci*. 1991;41(1): 51-53.
61. Силачев Д.Н. и др. Влияние наркотических препаратов на эффективность удаленного ишемического преколонирования // *Биохимия*. – 2017. – Т. 82. – №.9. – С. 1296–1308. [Silachev DN, Usatikova EA, Pevzner IB et al. Effect of anesthetics on efficiency of remote ischemic preconditioning. *Biochemistry (Moscow)*. 2017;82(9): 1296-1308. (In Russ).] <https://doi.org/10.1134/S0006297917090036>
62. Li H, Yin J, Li L et al. Isoflurane postconditioning reduces ischemia-induced nuclear factor-κB activation and interleukin 1β production to provide neuroprotection in rats and mice. *Neurobiol Dis*. 2013;54: 216-224. doi: 10.1016/j.nbd.2012.12.014

63. Brown AT, Skinner RD, Flores R et al. Stroke location and brain function in an embolic rabbit stroke model. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*. 2010;21(6): 903-909. doi: 10.1016/j.jvir.2010.02.023
64. Brown AT, Arthur MC, Nix J Set al. Dodecafluoropentane emulsion (DDFPe) decreases stroke size and improves neurological scores in a permanent occlusion rat stroke model. *Open Neurol J*. 2014;8(1): 27-33. doi: 10.2174/1874205x01408010027
65. Spilker J, Kongable G, Barch C et al. Using the NIH Stroke Scale to assess stroke patients. The NINDS rt-PA Stroke Study Group. *J Neurosci Nurs*. 1997;29(6): 384-92.
66. Rasool N, Faroqui M, Rubinstein EH. Lidocaine accelerates neuroelectrical recovery after incomplete global ischemia in rabbits. *Stroke*. 1990;21(6): 929-935. doi: 10.1161/01.str.21.6.929
67. Lazarewicz JW, Pluta R, Salinska E, Puka M. Beneficial effect of nimodipine on metabolic and functional disturbances in rabbit hippocampus following complete cerebral ischemia. *Stroke*. 1989;20(1): 70-77. doi: 10.1161/01.str.20.1.70
68. Farias LA, Smith EE, Markov AK. Prevention of ischemic-hypoxic brain injury and death in rabbits with fructose-1,6-diphosphate. *Stroke*. 1990;21(4): 606-613. doi: 10.1161/01.str.21.4.606
69. Scavini C, Rozza A, Bo P et al. Kappa-opioid receptor changes and neurophysiological alterations during cerebral ischemia in rabbits. *Stroke*. 1990;21(6): 943-947. doi: 10.1161/01.str.21.6.943
70. Wang DD, Bordey A. The astrocyte odyssey. *Prog Neurobiol*. 2008. doi: 10.1016/j.pneurobio.2008.09.015
71. An SA, Kim J, Kim OJ et al. Limited clinical value of multiple blood markers in the diagnosis of ischemic stroke. *Clin Biochem*. 2013;46(9): 710-715. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.02.005
72. Zongo D, Ribéreau-Gayon R, Masson F et al. S100-B protein as a screening tool for the early assessment of minor head injury. *Ann Emerg Med*. 2012;59(3): 209-218. doi: 10.1016/j.annemergmed.2011.07.027
73. González-García S, González-Quevedo A, Fernández-Concepción O et al. Short-term prognostic value of serum neuron specific enolase and S100B in acute stroke patients. *Clin Biochem*. 2012;45(16-17): 1302-1307. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2012.07.094
74. Liu Y, Dargusch R, Maher P, Schubert D. A broadly neuroprotective derivative of curcumin. *J Neurochem*. 2008;105(4): 1336-1345. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05236.x
75. Ma L, Harada T, Harada C et al. Neurotrophin-3 is required for appropriate establishment of thalamocortical connections. *Neuron*. 2002;36(4): 623-634. doi: 10.1016/s0896-6273(02)01021-8
76. Małczyńska P, Piotrowicz Z, Drabarek D, et al. Rola mózgowego czynnika neurotroficznego (BDNF) w procesach neurodegeneracji oraz w mechanizmach neuroregeneracji wywołanej wzmożoną aktywnością fizyczną. *Postępy Biochemii*. 2019;65(1): 2-8. (in Polish). doi: 10.18388/pb.2019\_251
77. Silachev DN, Uchevatkin AA, Pirogov YA, et al. Comparative evaluation of two methods for studies of experimental focal ischemia: magnetic resonance tomography and triphenyltetrazoleum detection of brain injuries. *Bull Exp Biol Med*. 2009;147(2): 269-272. doi: 10.1007/s10517-009-0489-z

**Информация об авторах**

**Юрий Игоревич Сысоев** – старший преподаватель кафедры фармакологии и клинической фармакологии, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, научный сотрудник ИТБМ СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: susoyev92@mail.ru

**Вероника Александровна Приходько** – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

**Дмитрий Юрьевич Ивкин** – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России; начальник Центра экспериментальной фармакологии Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

**Сергей Владимирович Оковитый** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com

**Author information**

**Yuriy I. Sysoev** – senior lecturer at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint-Petersburg Chemical Pharmaceutical University; research officer at Institute of Translational Biomedicine, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: susoyev92@mail.ru

**Veronika A. Prikhodko** – graduate student at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint-Petersburg Chemical Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

**Dmitriy Y. Ivkin** – PhD of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint-Petersburg Chemical Pharmaceutical University; head of Center of Experimental Pharmacology of Saint-Petersburg Chemical Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

**Sergey V. Okovityi** – PhD in Medicine, Professor, head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of Saint-Petersburg Chemical Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com

---

Для заметок

---