

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА  
И КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

УДК: 616.831-005.4:599.323]:57.084.1

DOI 10.24412/2220-7880-2025-4-23-27

ОПТИМАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО  
МОЗГА У КРЫС*Трубникова Н. Н., Кисиленко И. А., Бурцева А. А., Белоцерковская М. А., Глебова А. Э., Иваненко А. А., Фисталь Н. Н., Филимонов Д. А.*

ФГБУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии имени В. К. Гусака» Минздрава России, Донецк, Россия (283045, Донецкая Народная Республика, г. Донецк, Ленинский пр-т, д. 47), e-mail: info@iursdn.ru

**Цель:** выбрать оптимальную модель фокальной ишемии головного мозга у лабораторных крыс. Было отобрано 6 способов моделирования фокальной ишемии головного мозга. Исследования проводились на белых половозрелых нелинейных лабораторных крысах обоих полов. Критериями оптимальности модели были показатели выживаемости и тяжести неврологического дефицита по данным NSS-теста. Данные регистрировались на первые и третьи сутки после проведения операции. Самые высокие показатели выживаемости получены для моделей двусторонней транзиторной окклюзии ОСА в условиях гипотензии (0,5 на третьи сутки) и трепанации черепа с последующей аппликацией FeCl<sub>3</sub> к оболочкам мозга (0,82). Наиболее выраженный неврологический дефицит получен для моделей окклюзии ВСА Этоксисклеролом (14,5 балла на первые сутки), двусторонней транзиторной окклюзии ОСА + гипергликемии (11,33 балла) и двусторонней транзиторной окклюзии ОСА + гипотензии (12,5 балла). Полученные данные позволяют считать трепанацию черепа с аппликациями FeCl<sub>3</sub> к оболочкам мозга оптимальной моделью фокальной ишемии головного мозга, которая формирует транзиторный неврологический дефицит средней степени тяжести.

Ключевые слова: фокальная ишемия, экспериментальная модель, животная модель.

## AN OPTIMAL RAT MODEL OF FOCAL CEREBRAL ISCHEMIA

*Trubnikova N. N., Kisilenko I. A., Burtseva A. A., Belotserkovskaya M. A., Glebova A. E., Ivanenko A. A., Fistal' N. N., Filimonov D. A.*V. K. Gusak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery  
(283045, Donetsk People Republic, Donetsk, Leninsky Ave., 47), e-mail: info@iursdn.ru

**The objective is to determine an optimal rat model of focal ischemia. Six methods of modeling focal cerebral ischemia were selected. The studies were conducted on white sexually mature nonlinear laboratory rats of both sexes. The criteria for model optimality included survival rates and neurological severity according to the NSS. The data were recorded on the first and third days after the operation. The highest survival rates were obtained for models of bilateral transient CCA occlusion under hypotension (0.5 on the third day) and craniotomy followed by FeCl<sub>3</sub> application to the meninges (0.82). The most pronounced neurological deficit was obtained for models of ICA occlusion with Ethoxysclerol (14.5 points on the first day), bilateral transient CCA occlusion + hyperglycemia (11.33 points) and bilateral transient CCA occlusion + hypotension (12.5 points). The obtained data allow us to consider craniotomy with FeCl<sub>3</sub> applications to the meninges an optimal model of focal cerebral ischemia, when a moderate transient neurological deficit occurs.**

Keywords: focal ischemia, experimental model, animal model.

**Введение**

Острый инсульт представляет собой гетерогенный процесс, включающий разнообразные патологические механизмы, такие как снижение мозгового кровотока, глутаматная эксайтотоксичность, внутриклеточное накопление кальция и другие [1, 2]. Все эти механизмы невозможно изучить на единой экспериментальной модели ишемического инсульта (ИИ) [3, 4]. Так как качественное моделирование ишемии головного мозга является одним из важных условий проведения доклинических испытаний лекарственных средств, было разработано большое количество различных животных моделей, которые призваны с большой точностью воспроизводить глобальную или фокальную ишемию, а также геморрагические инсульты [1, 3, 4, 5, 6].

Вариативность сосудистой анатомии также препятствует созданию универсальной модели окклюзии артерий для различных животных [7, 8]. Нами были отобраны несколько способов моделирования фокальной ишемии для углубленного анализа выбора оптимальной модели. На данный момент наиболее эффективными объектами для исследований ИИ считаются грызуны (мыши и крысы). Они стали лучшими кандидатами благодаря экономической выгоде, простым методам мониторинга и вопросам, связанным с этическими проблемами [9, 10].

Нами было проанализировано 6 различных способов формирования ИИ у белых лабораторных нелинейных крыс обоих полов с целью выбора оптимальной модели фокальной ишемии головного мозга, основываясь

на оценке показателей выживаемости и выраженности неврологического дефицита.

Цель исследования: выбрать оптимальную модель фокальной ишемии головного мозга у лабораторных крыс.

### Материал и методы

Исследование проводилось на 58 белых нелинейных крысах обоих полов, массой 350–400 г, которые содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Исследования были одобрены локальным комитетом по биоэтике. Критериями, по которым принималось решение относительно выбора той или иной модели, были процент успешного формирования неврологического дефицита и высокие показатели выживаемости. Также учитывались литературные данные относительно соответствия той или иной модели патофизиологической картины, наблюдаемой в клинической практике.

Для оценки неврологического дефицита использовали NSS-тест. Шкала NSS состоит из 5 заданий на сенсорную чувствительность и координацию движений крысы. Чем больше полученное количество баллов, тем сильнее выражен неврологический дефицит. Оценка неврологического дефицита проводилась у интактных животных, на 1 и на 3 сутки после операции.

Животных делили на 6 групп в зависимости от модели формирования ИИ:

1. Правосторонняя транзиторная окклюзия средней мозговой артерии (СМА)

Животным под общей анестезией (дексдор и сибазон в дозировке 0,1 мл/100 г) внутримышечно (в/м) дополнительно вводили атропин 0,01 мл с разведением на 1 мл NaCl 0,9%-ного внутривенно для профилактики острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и угнетения функции блуждающего нерва, выполняли операцию по транзиторной окклюзии правой СМА с введением нейлонового монофиламента с силиконовым наконечником. Операции на сосудах выполняли с применением микроскопа офтальмологического Labomed PRIMA OPN (Labomed, США) ( $\times 8$ ).

После обработки операционного поля раствором антисептика и подкожным введением 0,01 мл бупивакаина продольным доступом по срединной линии шеи выполняли рассечение кожи, подкожной жировой клетчатки, platysma. Тупым способом латерально отводили кивательную мышцу, выделяли общую сонную артерию (далее ОСА) справа и накладывали на нее клипсу. Затем выделяли бифуркацию и накладывали клипсу на внутреннюю сонную артерию (далее ВСА). Лигировали и коагулировали наружную сонную артерию (далее НСА). Затем в НСА вводили окклюдер (MCAO Sutures for Rodent Stroke Models, RWD Life Science, Китай) через бифуркацию к ВСА. Время окклюзии составляло 60 минут. Затем окклюдер извлекали, снимали клипсы, ушивали рану и обрабатывали шов бетацином. После операции вводили гентамицин и кетопрофен в пересчете на массу тела крысы (2 мг/кг и 5 мг/кг соответственно в 0-е, 1-е, 2-е сутки).

2. Двусторонняя окклюзия ОСА в условиях гипотензии.

Описанным выше способом выделяли ОСА слева и справа и брали на силиконовую лигатуру. Из бедренной вены отбирали объем крови, примерно соответствующий 10% общего кровотока, измеряли АД с помощью прибора «Систола» («Нейроботикс», РФ), чтобы убедиться в формировании гипотензии. Затем

на обе ОСА накладывали клипсы. Время пережатия составляло 5 минут. После снятия клипс рану ушивали и обрабатывали бетацином. После операции вводили гентамицин и кетопрофен в пересчете на массу тела крысы в 0-е, 1-е, 2-е сутки.

3. Двусторонняя окклюзия ОСА в условиях гипергликемии.

Описанным выше способом выделяли ОСА слева и справа, брали на силиконовую лигатуру. Внутривенно вводили 1,5 мл 40%-ной глюкозы. Через 15 минут накладывали клипсы на обе ОСА. Время пережатия составляло 20 минут. Затем клипсы снимали, рану ушивали и обрабатывали бетацином. Вводили гентамицин и кетопрофен в пересчете на массу тела крысы в 0-е, 1-е, 2-е сутки.

4. Двусторонняя окклюзия ОСА.

В данной модели применяли перманентную окклюзию правой ОСА и транзиторную – левой.

Для анестезии использовали кетамин (100 мг/кг) и дексдор (0,1 мл/100 г). Дополнительно вводили атропин 0,01 мл с разведением на 1 мл NaCl 0,9%-ного внутривенно для профилактики ОРДС и угнетения функции блуждающего нерва.

Выделяли ОСА справа и слева, брали на силиконовую лигатуру. Перевязывали правую ОСА перманентно, через 15 минут накладывали клипсу на левую ОСА. Время пережатия составило 3 интервала по 5 минут с реперфузией по 60 секунд на каждое снятие клипс. После последнего пережатия рану ушивали, обрабатывали бетацином. Вводили гентамицин и кетопрофен в пересчете на массу тела крысы в 0-е, 1-е, 2-е сутки [11].

5. Окклюзия правосторонней ВСА этоксисклеролом.

Этоксисклерол – это препарат для склерозирования варикозного расширения вен конечностей, пищевода, желудка, а также геморроидальных узлов, телеангиэктазий периферических и центральных вен. Действующее вещество – лауромакрогол 400 (полидоканол). Препарат повреждает эндотелий сосудов, вызывая денатурацию белков, стимулируя быстрое образование тромба. Также этоксисклерол снижает возбудимость нервных окончаний и проводимость болевого импульса, обеспечивая безболезненность склеротерапии.

Для анестезии использовали в/м дексдор и сибазон в дозировке 0,1 мл/100 г. После обработки операционного поля раствором антисептика и подкожным введением 0,01 мл бупивакаина продольным доступом по срединной линии шеи рассекали кожу, подкожную жировую клетчатку, platysma. Тупым способом латерально отводили кивательную мышцу, выделяли ОСА справа и накладывали на нее клипсу. Выделяли ВСА и накладывали на нее клипсу, лигировали НСА. Методом пункции катетером с иглой-бабочкой 24G вводили препарат Этоксисклерол 3%-ный в разведении в соотношении 1:1 с NaCl 0,9%-ным через НСА с перевязкой культи сосуда. Рану ушивали и обрабатывали бетацином. Вводили гентамицин и кетопрофен в пересчете на массу тела крысы в 0-е, 1-е, 2-е сутки [12].

6. Аппликации FeCl<sub>3</sub> к оболочкам мозга.

Для анестезии использовали кетамин (100 мг/кг) и сибазон (0,1 мл/100 г). После обработки операционного поля раствором антисептика и подкожным введением 0,01 мл бупивакаина поперечным доступом между глазом и ухом рассекали кожу, отделяли фасции, пересекали мышцы. Фрезером на 400 об./мин удаляли часть височной кости с левой стороны (под швом), формируя отверстие 3×3 мм. Стерильную салфетку, смочен-

ную в FeCl<sub>3</sub> (химически чистом), разведенный в воде для инъекций (40%), прикладывали на 5 мин. к дистальной части СМА. Спустя 5 минут аппликацию удаляли, место наложения промывали раствором NaCl 0,9%-ным, просушивали ватной палочкой, рану ушивали и обрабатывали бетедином. Вводили гентамицин и кетопрофен в пересчете на массу тела крысы в 0-е, 1-е, 2-е сутки [13].

Полученные в результате исследований данные обрабатывались в среде разработки RStudio с использованием языка R. Для сравнения различий между тремя

и более независимыми группами использовали критерий Краскела–Уоллиса. Для сравнения различий между двумя связанными выборками (результаты до и после операции) использовался критерий Вилкоксона.

### Результаты и их обсуждение

Сводные данные по выживаемости на 1-е и 3-и сутки после операции в группах представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1

Показатели выживаемости у нелинейных белых крыс в различных экспериментальных моделях

Группа	Всего особей	Выжившие на 1-е сутки	Выживаемость на 1-е сутки	Выжившие на 3-и сутки	Выживаемость на 3-и сутки
Двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипергликемия	7	3	0,43	1	0,14
Двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипотензия	4	2	0,5	2	0,5
Краниотомия + FeCl <sub>3</sub>	22	20	0,91	18	0,82
Окклюзия ВСА Этоксисклеролом	4	2	0,5	0	0,0
Окклюзия двух ОСА	4	0	0	0	0,0
Транзиторная окклюзия СМА филаментом	17	4	0,24	2	0,12

Как видно на графике, в двух группах (окклюзия ВСА Этоксисклеролом и окклюзия двух ОСА) до третьих суток не дожило ни одно животное, в связи с чем набор животных в данную группу был прекращен. Выше всего выживаемость была в группе с аппликацией хлоридом железа.

До операции группы статистически значимо не отличались по показателю NSS, который у интактных животных составил в среднем 0,7 балла. Средние значения NSS на 1-й и 3-й день после операции приведены в таблице 2, на рисунке 3 и 4. Результаты NSS-теста статистически значимо отличались в каждой группе с выжившими животными на первый день после операции по сравнению с результатами до операции, что свидетельствует о том, что нам удалось сформировать неврологический дефицит.

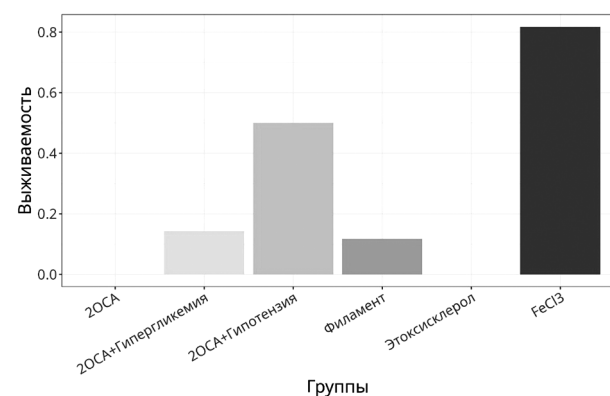


Рис. 1. Показатели выживаемости в группах на третьи сутки после операции.

Примечание: 2ОСА – окклюзия двух ОСА; 2ОСА + гипергликемия – двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипергликемия; 2ОСА + гипотензия – двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипотензия; филамент – транзиторная окклюзия СМА филаментом; Этоксисклерол – окклюзия ВСА Этоксисклеролом; FeCl<sub>3</sub> – краниотомия и аппликация хлоридом железа

Таблица 2

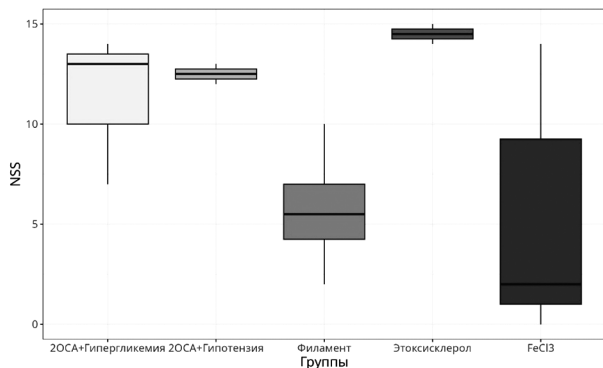
Средние значения показателя NSS на 1-е и 3-и сутки после операции

Группа	NSS на 1-й день	p (до операции / 1 день после операции)	NSS на 3-й день
Краниотомия + FeCl <sub>3</sub> (40%-ный)	5	0,0006	1,89
Транзиторная окклюзия СМА филаментом	5,75	0,019	2
Двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипотензия	12,5	0,019	3,5
Двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипергликемия	11,33	0,005	5
Окклюзия ВСА Этоксисклеролом	14,5	0,019	–

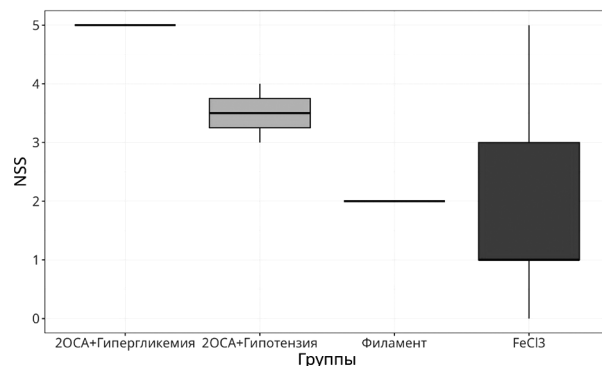
На первые сутки после операции тест Краскела–Уоллиса выявил статистически значимую разницу в медианах показателя NSS между исследуемыми группами (p-value=0,03). На третьи сутки статистически значимой разницы в медианах показателя NSS между исследуемыми группами не выявлено, p-value=0,11.

Во всех группах средний показатель NSS у выживших животных снижался от 1-го дня к 3-му дню, что свидетельствует о снижении неврологического дефицита. Степень снижения NSS отражена на рисунке 4.

Таким образом, в группе с окклюзией обеих ОСА мы не смогли оценить величину неврологического дефицита и ее динамику, так как уже к первому суткам после операции смертность достигла 100%. Высокий уровень неврологического дефицита наблюдался в группах с окклюзией ВСА Этоксисклеролом, двусторонней транзиторной окклюзии ОСА + гипергликемии и двусторонней транзиторной окклюзии ОСА + гипотензии. Однако для первых двух групп показатель выживаемости



*Рис. 2. Показатели NSS через сутки после операции. Примечание: 2OCA + гипергликемия – двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипергликемия; 2OCA + гипотензия – двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипотензия; филамент – транзиторная окклюзия СМА филаментом; Этоксисклерол – Окклюзия ВСА Этоксисклеролом; FeCl<sub>3</sub> – краниотомия и аппликация хлоридом железа.*



*Рис. 3. Показатели NSS на 3-й день после операции. Примечание: 2OCA + гипергликемия – двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипергликемия; 2OCA + гипотензия – двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипотензия; филамент – транзиторная окклюзия СМА филаментом; FeCl<sub>3</sub> – краниотомия и аппликация хлоридом железа.*

сти на третьи сутки был очень низким – 0 и 0,14 соответственно. В группе с двусторонней окклюзией + гипотензией к третьим суткам выжила только половина животных.

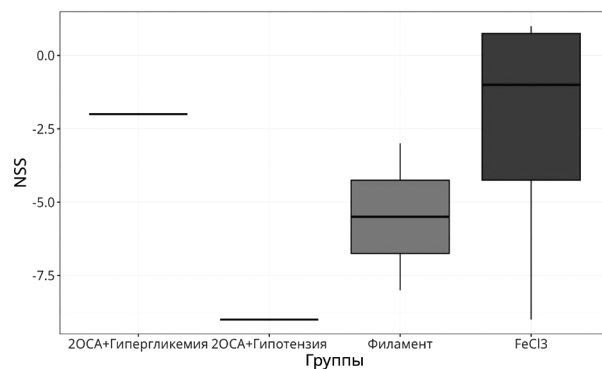
Средний уровень неврологического дефицита наблюдался в группах с аппликацией хлоридом железа и транзиторной окклюзией ОСА филаментом, однако в последней группе показатель выживаемости также был очень низким.

На основании высокого уровня выживаемости мы остановились на модели с аппликацией FeCl<sub>3</sub> к оболочкам мозга, поскольку она не требует вмешательства таких сторонних факторов, как введение глюкозы или забор значительного объема крови.

Хотя модель ишемии, индуцированной FeCl<sub>3</sub>, является хорошо описанной, факторы, инициирующие образование тромбов, изучены не до конца. Согласно одной из устоявшихся концепций, опосредованное FeCl<sub>3</sub> окисление вызывает обнажение эндотелиальных клеток с последующим обнажением субэндотелиального матрикса, что приводит к активации системы коагуляции и последующей тромботической окклюзии СМА. Этот его эффект длится не более 2 часов после удаления аппликаций с поверхности мозговых оболочек, после чего кровотоки постепенно восстанавливаются, что наиболее близко к клинической картине у пациентов с ИИ [14]. Данная модель не сопряжена с термическим повреждением нервной ткани, что выгодно отличает ее от модели с коагуляцией дистального участка СМА. Очаг ишемии в модели FeCl<sub>3</sub>-индуцированной модели ИИ, по-видимому, характеризуется меньшим объемом, чем в моделях с окклюзией проксимального участка СМА, что и объясняет лучшую выживаемость при менее выраженном неврологическом дефиците. Также данная модель позволяет избежать смертности, связанной с реперфузией после быстрого удаления окклюдера или снятия клипсы.

**Выводы**

1. Самые высокие показатели выживаемости получены для моделей двусторонней транзиторной окклюзии ОСА в условиях гипотензии и трепанации черепа с последующей аппликацией FeCl<sub>3</sub> к оболочкам мозга.



*Рис. 4. Уменьшение показателя NSS с 1-е по 3-и сутки после операции.*

*Примечание: 2OCA + гипергликемия – двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипергликемия; 2OCA + гипотензия – двусторонняя транзиторная окклюзия ОСА + гипотензия; филамент – транзиторная окклюзия СМА филаментом; FeCl<sub>3</sub> – краниотомия и аппликация хлоридом железа.*

2. Наиболее выраженный неврологический дефицит получен для моделей окклюзии ВСА Этоксисклеролом, двусторонней транзиторной окклюзии ОСА + гипергликемии и двусторонней транзиторной окклюзии ОСА + гипотензии.

3. Сопоставляя показатели выживаемости и тяжести неврологического дефицита, мы выбрали оптимальной моделью фокальной ишемии трепанацию черепа с аппликациями FeCl<sub>3</sub> к оболочкам мозга.

4. Модель с аппликациями FeCl<sub>3</sub> к оболочкам мозга может быть методом выбора в условиях экспериментальных исследований, при необходимости набора относительно большого числа наблюдений с высокими показателями выживаемости, при ограниченных технических ресурсах (например, при отсутствии возможности проведения МРТ-верификации сформировавшейся ишемии головного мозга).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явного или потенциального конфликта интересов, связанного с публикацией статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

## Литература/References

1. Щербак Н.С. Эффекты и механизмы ишемического preconditionирования и постconditionирования головного мозга: диссертация <...> д-ра биол. наук. Санкт-Петербург, 2017. [Shcherbak N.S. Effects and mechanisms of ischemic preconditioning and postconditioning of the brain [dissertation] St. Petersburg; 2016. P. 50. (In Russ.)]
2. Kronenberg G., Gertz K., Heinz A., Endres M. Of mice and men: modelling post-stroke depression experimentally. *Br J Pharmacol.* 2014; 171: 4673–4689.
3. Li Y., Zhang J. Animal models of stroke. *Animal Model Exp Med.* 2021; 4 (3): 204–219.
4. Sommer C.J. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathol.* 2017; 133: 245–261.
5. King H., Reiber M., Philippi V., Stirling H., Auleher K. Anesthesia and analgesia for experimental craniotomy in mice and rats: a systematic scoping review comparing the years 2009 and 2019. *Frontiers in Neuroscience.* 2023; 17. DOI: 10.3389/fnins.2023.1143109.
6. Shah F.A., Li T., Kury L.T.A. et al. Pathological comparisons of the hippocampal changes in the transient and permanent middle cerebral artery occlusion rat models. *Front Neurol.* 2019; 10: 1178.
7. Moiseenko V.I., Apryatina V.A., Gainetdinov R.R. Trace Amine-Associated Receptors' Role in Immune System Functions. *Biomedicine.* 2024; 12 (4): 893.
8. Spronk E., Sykes G., Falcione S. et al. Hemorrhagic Transformation in Ischemic Stroke and the Role of Inflammation. *Frontiers in Neurology.* 2021; 12. DOI: 10.3389/fneur.2021.661955.
9. Беляков В.И., Громова Д.С., Попова Н.Р., Мякишева Ю.В. Современные методы изучения поведения грызунов в модельных биомедицинских исследованиях (обзор проблемы) // Современные вопросы биомедицины. 2022. 4 (21). С. 13–22. [Belyakov V.I., Gromova D.S., Popova N.R., Myakisheva Yu.V. Modern methods for studying rodent behavior in model biomedical studies (problem review). *Modern Issues of Biomedicine.* 2022; 6 (4): 13–22 (In Russ.)]
10. Haupt M., Gerner S.T., Bähr M., Doeppner T.R. Quest for Quality in Translational Stroke Research-A New Dawn for Neuroprotection? *Int J. Mol Sci.* 2022; 23 (10): 5381. DOI: 10.3390/ijms23105381
11. Fanaei H., Pourbakht A., Jafarzadah S. Bilateral Carotid Artery Occlusion and Cochlear Oxidative Stress and Hearing Loss in Rats. *Basic Clin Neurosci.* 2020; 11 (6): 821–829. DOI: 10.32598/bcn.11.6.1154.1.
12. Winneberger J., Schools S., Lessmann K., Randez-Garbayo J., Gerloff C., Gelderblom M. et al. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 is a gatekeeper of neutrophil transendothelial migration in ischemic stroke. *Brain Behav Immun.* 2021; 93: 277–287.
13. Lin X., Zhao P., Lin Z. et al. Establishment of a Modified and Standardized Ferric Chloride-Induced Rat Carotid Artery Thrombosis Model. *ACS Omega.* 2022; 7 (10): 8919–8927. DOI: 10.1021/acsomega.1c07316.
14. Li C.Y., Jiang H.F., Li L. et al. Neuroglobin Facilitates Neuronal Oxygenation through Tropic Migration under Hypoxia or Anemia in Rat: How Does the Brain Breathe? *Neurosci Bull.* 2023; 39 (10): 1481–1496. DOI: 10.1007/s12264-023-01040-x.