

Модели ишемического инсульта (обзор)

А. М. Голубев

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2
Российский университет дружбы народов,
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Models of Ischemic Stroke (Review)

Arkady M. Golubev

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia
Peoples' Friendship University of Russia,
6 Miklukho-Maclaya Str., 117198 Moscow, Russia

Частота развития ишемического инсульта остается высокой во многих странах, несмотря на тенденцию снижения заболеваемости, обусловленной нарушениями мозгового кровообращения. Недостаточные знания патогенеза, диагностики, клиники и лечения этого грозного заболевания. могут быть восполнены моделированием ишемического инсульта на животных, в частности грызунах (крысы, мыши).

Цель обзора. Обоснование выбора перспективной модели ишемического инсульта человека.

Из более 300 первично отобранных источников литературы различных баз данных (Scopus, Web of science, РИНЦ и др.) для анализа выбрали 84 источника, из них — 72 источника, опубликованных в течение последних лет (2015–2019 гг.). Критерием исключения источников служили малая информативность и устаревшие данные.

В обзоре рассмотрели 6 экспериментальных моделей острых нарушений мозгового кровообращения: окклюзия средней мозговой артерии, модель эмболического инсульта, фототромбоз, модели с использованием тромбина, эндотелина-1 и с применением электрокоагуляции средней мозговой артерии.

Привели факторы, влияющие на достоверность и воспроизводимость результатов исследования, связанные с соблюдением правил по размещению и акклиматизации животных, организации питания и ухода, с выбором метода анестезии и обезболивания, соблюдением асептики, мониторингом основных физиологических параметров на всех этапах эксперимента по моделированию ишемического инсульта, с гуманным выводением животных из эксперимента.

Сделали вывод о перспективности модели ишемического инсульта, основанной на окклюзии средней мозговой артерии, как наиболее приближенной к ишемическому инсульту у человека и позволяющей получать воспроизводимые результаты в эксперименте.

Ключевые слова: ишемический инсульт; модели ишемического инсульта; окклюзия; средняя мозговая артерия; эмболический инсульт; фототромбоз

The incidence of ischemic stroke remains high in many countries, despite a declining trend in the incidence of brain circulation disorders. Limited knowledge of the pathogenesis, diagnosis, clinical presentation, and treatment of this life-threatening disease can be complemented by modelling of ischemic stroke on animals, particularly, in rodents (rats, mice).

The aim of review: to provide a rationale for choosing an optimal model of human ischemic stroke.

Among more than 300 primary literature sources from various databases (Scopus, Web of science, RSCI, etc.), 84 sources were selected for evaluation, of which 72 were published in the recent years (2015–2019). The criteria for exclusion of sources were low relevance and outdated data.

The review examined six experimental models of acute cerebrovascular events including middle cerebral artery occlusion, embolic stroke model; phototrombosis; models using thrombin, endothelin-1 and electrocoagulation of the middle cerebral artery.

The review outlines the factors influencing reliability and reproducibility of research results, related to adherence to the rules of animal accommodation and acclimatization, nutrition and care, selection of anesthesia and pain relief methods, compliance with aseptic techniques, monitoring of basic physiological parameters at all stages of the ischemic stroke modeling experiment, with humane withdrawal of animals from the experiment.

Адресс для корреспонденции:

Аркадий Михайлович Голубев
E-mail: arkadygolubev@mail.ru

Correspondence to:

Arkady M. Golubev
E-mail: arkadygolubev@mail.ru

It was concluded that the model of ischemic stroke, based on the occlusion of the middle cerebral artery, is most promising as being the closest to features of human ischemic stroke and enabling to obtain reproducible results in the experiment.

Keywords: *ischemic stroke; models of ischemic stroke; occlusion; middle cerebral artery; embolic stroke; pho-totrombosis*

DOI:10.15360/1813-9779-2020-1-59-72

Введение

Несмотря на тенденцию снижения заболеваемости, обусловленной нарушениями мозгового кровообращения, частота развития ишемического инсульта остается высокой, что подтверждается статистическими данными [1–3]. В Великобритании ишемический инсульт регистрируется ежегодно у 100 тысяч человек. 12% пациентов умирают в течение 30 дней, а две трети выживших после инсульта являются инвалидами. В Китае частота регистрации инсульта составляет 1596 на 100000 человек [4], а в Иране — 16 на 100000 населения [5]. В Мексике этот показатель равен 33,47 на 100000 жителей [6].

Частота развития и неблагоприятные последствия ишемического инсульта обусловлены недостаточными знаниями патогенеза, диагностики, клиники и лечения этого грозного заболевания. Некоторые вопросы патогенеза могут быть выяснены моделированием ишемического инсульта на животных, в частности — грызунах (крысы, мыши) [7–9]. В связи с этим, совершенствование моделирования ишемического инсульта, выполнение рекомендаций по содержанию и уходу за животными, совершенствование операционной техники, анестезии, минимизация боли будут способствовать получению более точных результатов научного исследования [10].

О важности решения этих вопросов свидетельствует и совещание экспертов, организованное Национальным центром Великобритании по замене, усовершенствованию и сокращению использования животных в научных исследованиях на основе применения новых технологий в 2014 году для оценки существующих методов моделирования ишемического инсульта, обсуждения проблем, связанных с надлежащим уходом за животными и выработки соответствующих рекомендаций.

Цель обзора — обоснование выбора перспективной модели ишемического инсульта человека.

Модель, основанная на окклюзии средней мозговой артерии

Преобладающий выбор связан с моделированием нарушений мозгового кровообращения

Introduction

Despite the trend of decreasing morbidity due to cerebrovascular accidents, the incidence of ischemic stroke remains high, as confirmed by statistical data [1–3]. In the UK, ischemic stroke is reported in 100,000 people annually. 12% of patients die within the next 30 days, and two-thirds of stroke survivors are left disabled. In China, the incidence of stroke is 1596 per 100,000 people [4], while in Iran it reaches 16 per 100,000 [5]. In Mexico, the figure is 33.47 per 100,000 [6].

High incidence and the detrimental effects of ischemic stroke are due to a lack of knowledge of the pathogenesis, diagnosis, clinic and treatment of this life-threatening disease. Some issues of pathogenesis can be clarified by modeling ischemic stroke in animals, in particular, rodents (rats, mice) [7–9]. In this respect, improvement of the ischemic stroke modeling, implementation of animal maintenance and care recommendations, optimization of surgical techniques and anesthesia, and pain minimization will contribute to obtaining more accurate results of scientific research [10].

The importance of solving of these problems has been confirmed by the expert meeting organized by the the National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (United Kingdom, 2014) to assess existing methods for ischemic stroke modelling, discuss proper animal care and develop relevant recommendations.

Aim of the review: to provide a rationale for choosing a promising model for human ischemic stroke.

The Middle Cerebral Artery Occlusion Model

Simulation of cerebrovascular accidents in the middle cerebral artery territory has been the most preferred model so far. Variants of this method allow obtaining a cortical infarct using the occlusion of more distal parts of the middle cerebral artery [11–14].

When choosing an occluder, its diameter and flexibility as well as its tip coverage are essential. The occluder flexibility minimizes the risk of artery damage (puncture) in the area of the skull base. A long, larger diameter occluder provides more reliable occlusion, but can also block other vessels coming directly from the circle of Willis to the sub-

ния в бассейне средней мозговой артерии. Варианты этого способа позволяют получить кортикальный инфаркт, используя окклюзию более дистальных отделов средней мозговой артерии [11–14].

При выборе окклюдера ключевое значение имеют его диаметр и гибкость, а также — покрытие наконечника. Гибкость окклюдера минимизирует риск повреждения (прокола) артерии в области основания черепа. Длинный окклюдер большего диаметра обеспечивает более надежную окклюзию, но может блокировать и другие сосуды, отходящие непосредственно от Виллизиева круга к подкорковым структурам. Вне пределов самой средней мозговой артерии, вследствие закупорки проксимальных артерий, отходящих от средней мозговой артерии (например — передняя хориоидальная и гипоталамическая артерии) в зоне нарушенного кровообращения могут оказаться таламус, гипоталамус, и гиппокамп. У некоторых животных может быть наследственный неполный Виллизиев круг.

Чаще используют окклюдеры малого диаметра, которые ограничивают ишемическое повреждение территории кровоснабжения средней мозговой артерии.

Более вариабельные результаты отмечаются на моделях с временной окклюзией средней мозговой артерии по сравнению с ее постоянной окклюзией. Это обусловлено развитием реперфузионных повреждений в связи с частичным восстановлением кровотока. Ряд таких факторов как пол животных и возраст, предшествующий стресс, окружающая среда могут оказывать значительное влияние на результаты исследования, особенно на летальность и сроки восстановления [15–17].

Эмболический инсульт

Многие вопросы патогенеза инсультов эмболической природы остаются малоизученными [18, 19]. В связи с этим разрабатываются методы экспериментального воспроизведения эмболического инсульта, в частности метод с использованием тонкой канюли, содержащей сгусток крови. Данная модель является наиболее сложной технически, а также — в плане получения воспроизводимых результатов. При ее использовании регистрируется высокая смертность экспериментальных животных (более 30%).

Фототромбоз

Данная модель рекомендуется для исследования клеточных и молекулярных механизмов развития ишемического инсульта [20, 21]. Модель основана на тромбировании кортикальных пиальных сосудов. Под наркозом про-

cortical structures. Beyond the middle cerebral artery, the thalamus, hypothalamus, and hippocampus may be in the area of impaired circulation due to occlusion of proximal arteries arising from the middle cerebral artery (e.g. the anterior chorioidal and hypothalamic arteries). Some animals may have a congenital incomplete circle of Willis.

Small diameter occluders are used more often, restricting ischemic lesion to the blood supply area of the middle cerebral artery.

More variable results are observed on models with temporal occlusion of the middle cerebral artery compared to its permanent occlusion. This is due to the development of reperfusion damage resulting from partial recovery of blood flow. Various factors such as gender and age of animals, previous stress, and environment may have a significant impact on the study results, especially on mortality and recovery timeframe [15–17].

Embotic Stroke

Many issues of the pathogenesis of embolic strokes remain poorly studied [18, 19]. In this regard, methods of experimental embolic stroke reproduction are under development, in particular the method using a thin cannula containing a blood clot. This model is the most complicated technically and also in terms of obtaining reproducible results. The use of this model results in high mortality of experimental animals (over 30%).

Photothrombosis

This model is recommended for studying cellular and molecular mechanisms of ischemic stroke [20, 21]. The model is based on thrombosis of cortical pial blood vessels. Under anesthesia, the skin is cut along the midline above the skull. In some laboratories, the bones of the skull are rarefied with a drill. The photosensitive dye Bengal pink is injected intraperitoneally or intravenously. The light source is placed perpendicularly above the skull, in the presumed infarct modelling area. The main requirement is to avoid heating of the skull and brain under lighting. In addition, a green filter is used to exclude infrared and ultraviolet waves, but to allow the light with a wavelength stimulating Bengali pink (the peak is at 560 nm).

Thrombin Injection Model

Stroke may also be caused by thrombin injection into the lumen of the distal branch of the middle cerebral artery [22, 23]. The possibility of spontaneous thrombolysis, affecting the variability of the results, should be taken into account. This model can be used to study thrombolytic drugs, for example, rtPA. The size of brain infarcts with this model is small, thus, neurological signs are minimal or absent.

изводится разрез кожи по средней линии над черепом. В некоторых лабораториях с помощью сверла проводится разрежение костей черепа. Фоточувствительный краситель бенгальский розовый вводится внутрибрюшинно или внутривенно. Источник света размещается перпендикулярно над черепом, в зоне, где предполагается моделирование инфаркта. Основное требование — исключить нагрев черепа и мозга при освещении. Дополнительно используют зеленый фильтр для исключения инфракрасных и ультрафиолетовых волн, но пропускающий свет с длиной волны, стимулирующей бенгальский розовый (пик — 560 нм).

Модель, основанная на введении тромбина

Инсульт может быть также вызван введением тромбина в просвет дистальной ветви средней мозговой артерии [22, 23]. При этом следует учитывать возможность спонтанного тромболизиса, влияющего на варибельность результатов. Эта модель может быть использована при изучении тромболитических препаратов, например, rtPA. Размеры инфарктов мозга при использовании данной модели небольшие, поэтому неврологические признаки минимальны или отсутствуют.

Модель инсульта с использованием эндотелина-1

Эндотелин-1 является эффективным вазоконстриктором продолжительного действия и приводит к появлению небольших фокусов ишемического повреждения. Используя стереотаксическую рамку, осуществляют микроинъекции эндотелина-1 в интересующий участок мозга, где и индуцируются ишемические повреждения [24, 25].

Электрокоагуляция средней мозговой артерии

В некоторых случаях постоянную окклюзию основного ствола средней мозговой артерии осуществляют посредством электрокоагуляции [26, 27]. Производится краниотомия и вскрывается твердая мозговая оболочка. Через артерию с помощью тонких диатермических щипцов пропускается ток. Это приводит к свертыванию крови, повреждению стенки артерии, ишемии мозга дистальнее места электрокоагуляции.

Наряду с этим, появляются новые модификации моделирования острых нарушений мозгового кровообращения, позволяющие детализировать их патогенез и осуществлять доклиническую апробацию новых методов лечения ишемического инсульта [28, 29].

Endothelin-1 Model of Stroke

Endothelin-1 is an effective long-acting vasoconstrictor causing small areas of ischemic injury. Using a stereotactic frame, endothelin-1 is microinjected into the target area of the brain, where ischemic injury is induced [24, 25].

Middle Cerebral Artery Electrocoagulation

In some cases, permanent occlusion of the main trunk of the middle cerebral artery is performed by electrocoagulation [26, 27]. Craniotomy is performed and the brain dura mater is dissected. Electric current is delivered through the artery by means of thin diathermic pincers. This leads to blood coagulation, arterial wall damage, cerebral ischemia distal to the electrocoagulation site.

At the same time, there are new modifications of acute cerebrovascular accident modeling, allowing for a detailed elaboration of their pathogenesis and preclinical testing of new methods of ischemic stroke treatment [28, 29].

Animal Maintenance Before and After Stroke

The rules for handling the experimental animals are specified by the European Parliament [30]. The duration of animal acclimatization should be at least 7 days before the experiment. Animals should be inspected daily to assess their appearance and control their body weight.

Irregular internal animal transportation may affect their physiological parameters causing sleep disturbances, increased plasma corticosterone, low immunity, and reduced body weight [31]. It takes from 2 to 4 days for these parameters to return to normal levels. Normalization of food consumption and sexual behavior after transportation requires more than 4 days. Transcontinental transportation of animals leads to longer circadian rhythm disorders, and their resynchronization takes more than 2 weeks.

When preparing the animals for the experiment, it is important to ensure the stability of daily exposures in order to maximally avoid side effects. Animals live in hierarchies where there is domination and subordination. Relocation of animals to other groups provokes stressful situations, disrupts social relations and causes aggression [32].

The same researcher should also work with animals during acclimatization.

One of the essential moments of animal maintenance is the environmental enrichment, which is the main requirement for improving their general condition [33]. The European requirements for the level of animal environmental enrichment are specified in the EU Directive 2010/6327, which pro-

Содержание животных до и после инсульта

Правила работы с экспериментальными животными определены Европейским Парламентом [30]. Продолжительность акклиматизации животных должна составлять не менее 7 дней до начала эксперимента. Животные должны ежедневно осматриваться для оценки внешнего вида, контроля массы тела.

Нарушения внутренней транспортировки животных может влиять на их физиологические параметры: нарушать сон, приводить к повышению содержания кортикостерона в плазме, снижению иммунной активности, уменьшению массы тела [31]. Нормализация этих показателей занимает от 2 до 4 дней. Для нормализации потребления пищи, сексуального поведения после транспортировки требуется более 4 дней. Трансконтинентальная транспортировка животных ведет к более длительным нарушениям циркадных ритмов и для их ресинхронизации необходимо более 2 недель.

При подготовке животных к эксперименту важна стабильность повседневных воздействий с целью максимального исключения побочных эффектов. Животные живут в иерархиях, где существует доминирование и подчинение. Переселение животных в другие группы приводит к стрессовой ситуации, нарушает социальные отношения, вызывает агрессию [32].

Желательно также, чтобы в процессе акклиматизации с животными работал один и тот же экспериментатор.

Одним из существенных моментов содержания животных является «обогащение» окружающей среды, что является основным требованием для улучшения их общего состояния [33]. Требования к уровню «обогащения» среды, в которой находятся животные, в Европе установлены Директивой ЕС 2010/6327, предусматривающей выделение «пространства достаточной сложности, позволяющее обеспечивать нормальное поведение в широком диапазоне». Существует «сверхобогащенный» уровень содержания животных: использование больших многоуровневых клеток, доступ к новым разнообразным игрушкам, оборудование для стимулирования двигательной активности, использование музыки, запахов, что обеспечивает более сложную мультисенсорную стимуляцию и более полное восстановление после моделирования инсульта. Если моделируются инсульты с развитием инфаркта коры головного мозга (что значительно влияет на поведение животных), их в ближайшем послеоперационном периоде целесообразно размещать индивидуально.

vides for «a space of sufficient complexity to allow the expression of a wide range of normal behaviour». There is a «super-enrichment» level of animal maintenance which is the use of large multi-level cages, access to new and diverse toys, equipment to stimulate motor activity, the use of music and odours for more sophisticated multi-sensory stimulation and more complete recovery after stroke modeling. If strokes with cortical infarcts are simulated (which significantly affects animal behavior), it is advisable to accommodate the animals separately in the immediate postoperative period.

Consumption of Food and Liquids

A balanced diet and fluid intake are essential for the successful recovery of animals in the postoperative period. During adaptation to post-stroke nutrition, one should consider that rodents are neophobic to food. To overcome neophobia, nutritional supplements should be introduced into the diet before surgery.

During preoperative adaptation, animals should eat the food that they will need after the stroke [34, 35]. The behavior of rodents is determined by the daily cycle, they eat food in the dark time of day. It is important to put the food into the cage before the active phase of animal nutrition.

An overnight fast before the operation could have negative consequences. Even a 6-hour starving period associates with weight loss and glycogen depletion in the liver.

The animal's access to water should also not be restricted due to the fact that the body weight reduction is primarily due to fluid loss. Signs such as sunken eyes, changes in skin turgor (skin does not straighten after pinching) indicate significant fluid loss. If swallowing is impaired, subcutaneous fluid injection is used. Moisturized mashed food should be delivered to animals at the end of the daylight, providing a more effective and natural model of rodent nutrition.

Stroke causes a change in the composition of the intestinal microbiota, which is partly due to changes in intestinal permeability and intestinal motility. The change in microbiota, in turn, affects the functioning of the CNS. In this regard it is necessary to avoid uncontrolled effects on animal microbiota during the experiment [36–39].

Improved methods for stroke modeling have been suggested [40]. The age of animals, associated diseases (hypertension, diabetes, obesity, infections, tumors, etc.) determine the pattern of stroke [41, 42]. Higher mortality rates and more severe neurological disorders are observed in older animals.

Anesthesia and Analgesia

The physiological status of the animal, the nature of the experiment, and the duration of the op-

Потребление пищи и жидкости

Рациональное питание и сбалансированное потребление жидкости являются условием успешного восстановления животных в послеоперационном периоде. В процессе акклиматизации к постинсультному питанию следует учитывать, что грызуны могут обладать неохотой в отношении пищи. Для преодоления пищевой неохоты пищевые добавки необходимо вводить в рацион питания до операции.

При акклиматизации животных в дооперационном периоде они должны потреблять ту пищу, которая им будет необходима после моделирования инсульта [34, 35]. Поведение грызунов определяется суточным циклом, они потребляют пищу в темное время суток. Важно, чтобы пища была помещена в клетку перед активной фазой питания животных.

Ночное голодание накануне операции может иметь негативные последствия. Даже 6-ти часовой интервал в приеме пищи сопровождается потерей веса и истощением гликогена в печени.

Доступ животного к воде также не должен быть ограничен в связи с тем, что потеря массы тела обусловлена, прежде всего, потерей жидкости. Такие признаки как запавшие глаза, изменение тургора кожи (кожа не расправляется после щипка) указывают на существенную потерю жидкости. При нарушении глотания используется подкожное введение жидкости. Увлажненную пищу в виде пюре эффективнее предоставлять животным в конце светового дня, обеспечивая естественную модель питания грызунов.

Инсульт вызывает изменение состава микробиоты кишечника, что частично обусловлено изменением проницаемости и моторики кишечника. Изменение микробиоты, в свою очередь, влияет на функционирование ЦНС. В этой связи необходимо в процессе эксперимента избегать неконтролируемых воздействий на микробиоту животных [36-39].

Предложены улучшенные способы моделирования инсульта [40]. Возраст животных, сопутствующие заболевания (гипертония, диабет, ожирение, инфекции, опухоли и др.) определяют особенности развития инсульта [41, 42]. У пожилых животных отмечаются более высокие показатели летальности, более тяжелые неврологические нарушения.

Анестезия и аналгезия

Для выбора метода анестезии имеют значение физиологический статус животного, характер эксперимента, длительность операции [43, 44]. Если у животных имеются проблемы, обусловленные заболеваниями печени и почек,

анестезия являются важными для выбора метода [43, 44]. Если животные имеют заболевания печени или почек, процесс восстановления после операции может быть более длительным и могут развиваться осложнения. В таких случаях вдыхаемый анестетик изофлуран, 99% которого выводится легкими с выдыхаемым воздухом, должен использоваться [45, 46].

Методы, повышающие эффективность анестезии, были предложены [47], и генотоксичность препаратов, используемых для анестезии, была изучена [48]. Животные контрольной группы должны подвергаться точно такой же анестезии, как животные экспериментальной группы. Помимо общей анестезии, местная анестезия используется в некоторых случаях [49-52]. Есть доказательства иммуномодулирующего эффекта местных анестетиков, и индукция иммуносупрессии может вызвать инфекционные осложнения, которые являются одними из основных неблагоприятных последствий инсульта [53].

Аналгезия предотвращает или значительно снижает боль, что значительно искажает результаты эксперимента. Животные в боли не едят, не пьют и не спят.

Оценку боли в моделях инсульта проводят на основе неспецифических признаков, которые важны для определения общего состояния животных. Такие признаки включают сужение глаз (напряжение орбитальных мышц), изменения формы и положения ушей и усов.

Aseptic Considerations

Инфекционные осложнения в результате плохой асептики проявляются воспалением, болью, замедленным восстановлением, что ставит под угрозу результаты эксперимента. Животные в моделях инсульта часто развивают спонтанную бактериальную пневмонию. Механизмы такой пневмонии неясны. Они могут быть связаны с иммунной супрессией. В таких случаях пневмония вызвана не внешней экспозицией, а скорее повышенной кишечной проницаемостью и бактериальной транслокацией. Аспирация также является вероятной причиной пневмонии. В таких ситуациях профилактическое антибиотическое лечение неэффективно. Напротив, использование антибиотиков, из-за изменений в микробном составе, может повлиять на результаты эксперимента. Если антибиотики используются, они должны вводиться как в экспериментальную, так и в контрольную группы животных.

Control of Physiological Functions

Общая анестезия приводит к отсутствию моргания, поэтому глаза должны быть защищены гелем или жидкостью, которая предотвращает высыхание роговицы во время анестезии.

Температуру тела необходимо контролировать, так как гипотермия или гипертермия могут развиваться. Охлаждение мозга (терапевтическая гипотермия) имеет эффективные нейропротективные свойства в моделировании ишемического инсульта [54]. Когда анестетики используются, гипотермия развивается из-за их влияния на терморегуляторные механизмы,

процесс восстановления после операции может быть более длительным и протекать с развитием осложнений. В подобных случаях предпочтительно использование ингаляционного анестетика изофлурана, 99% которого выводится легкими с выдыхаемым воздухом [45, 46].

Предложены способы, повышающие эффективность анестезии [47], изучаются вопросы генотоксичности препаратов, используемых для анестезии [48]. Животные контрольной группы должны подвергаться точно такой же анестезии, как и животные опытной группы. Кроме общей, в ряде случаев, используется местная анестезия [49–52]. Имеются данные о иммуномодулирующем действии местных анестетиков, а инсульт-индуцированная иммуносупрессия может быть причиной инфекционных осложнений, являющихся основным среди осложнений инсульта [53].

Аналгезия предотвращает или существенно уменьшает боль, которая значительно искажает результаты эксперимента. Животные, испытывающие боль, не едят, не пьют и не спят.

Оценка боли в моделях инсульта производится по неспецифичным признакам, имеющим важное значение и для определения общего состояния животных. К таким признакам относятся сужение глаз (орбитальное затягивание), изменение формы и положения ушей и усов.

Асептика

Инфекционные осложнения, как результат некачественной асептики, проявляются развитием воспаления, боли, замедленным выздоровлением, что ставит под угрозу результаты эксперимента. У грызунов при моделировании инсульта часто развивается спонтанная бактериальная пневмония. Механизмы развития такой пневмонии не ясны. Возможно, они связаны с подавлением иммунитета. В подобных случаях причиной развития пневмонии является не загрязнение из внешних источников, а, вероятно, повышенная проницаемость кишечника и бактериальная транслокация. Возможной причиной пневмонии может явиться и аспирация. В этих случаях профилактическое введение антибиотиков является неэффективным. Напротив, применение антибиотиков, в связи с изменением состава микробиоты, может влиять на результаты эксперимента. В случае использования антибиотиков они должны применяться как в опытной, так и контрольной группах животных.

Контроль физиологических функций

Общая анестезия приводит к отсутствию моргания, поэтому глаза должны быть защи-

due to metabolism suppression and dilatation of peripheral vessels. After induction of general anesthesia, body temperature decreases by 1–20°C. Maintaining body temperature is an essential component of the anesthesia management to avoid hypothermia. Special attention should be paid to obese animals, as excessive subcutaneous fat causes a decrease in perfusion and heat conductivity of tissues.

As all types of anesthesia have a negative effect on the respiratory system, it is necessary to ensure adequate oxygenation of organs. Endotracheal intubation and mechanical ventilation help control the effects of gas exchange, particularly through oxygen enrichment of the inhaled gas mixture. The use of tracheal intubation and artificial lung ventilation in stroke modeling reduces the mortality of operated animals as compared to spontaneous respiration. Lung ventilation in stroke modeling associates with a reduction in brain infarct size.

Blood oxygenation can be controlled invasively by performing arterial blood gas analysis (using PaO₂, mmHg) or non-invasively by pulse oximetry (SpO₂, %). The impact of anesthetics on respiratory and circulatory functions depends on the dose, therefore the use of lower doses of anesthetics is important.

Monitoring of the basic physiological parameters during anesthesia is necessary to ensure its stability, increase the study reproducibility, reduce mortality and complications in the postoperative period. Non-invasive monitoring methods should also be used to assure physiological stability. In particular, pulse oximetry allows assessing cardiorespiratory functions. Capnography is recommended to standardize respiratory function assessment in stroke modeling and in fMRI studies, where PaCO₂ stability is crucial. To compensate for fluid loss, a saline or Hartmann solution should be administered. Solutions should be given every 1–2 hours during anesthesia.

Postoperative Period

Modeling of brain ischemia in the postoperative period leads to a number of changes accompanied by clinical signs. The choice of a rational stroke modeling protocol is a crucial condition for successful outcome of the experiment [55, 56]. To prevent hypothermia of animals it is necessary to control the temperature in the room where the animals are kept after the operation. Local heat sources are used for this purpose. Physiological parameters are monitored at least four times a day at regular intervals during the first 48 hours. Body weight, food and fluid intake, animal interaction, cognitive functions, post-stroke depression are assessed [57–60]. Breathing control is also mandatory. Weight loss after stroke modeling is mainly explained by dehydration, eating disorders, reduced motor activity.

щены с помощью геля или жидкости, что предотвращает высыхание роговицы во время анестезии.

Необходим контроль температуры тела, так как возможно развитие гипо— или гипертермии. Охлаждение мозга (терапевтическая гипотермия) обладает эффективными нейропротекторными свойствами при моделировании ишемического инсульта [54]. При использовании анестетиков развивается гипотермия из-за их воздействия на механизмы терморегуляции, в связи с угнетением метаболизма и дилатацией периферических сосудов. После индукции общей анестезии температура тела снижается на 1–2°C. Поддержание температуры тела — часть управления анестезией для предотвращения переохлаждения. Особое внимание необходимо уделять тучным животным, так как избыток подкожного жира обуславливает снижение перфузии и теплопроводимости тканей.

Поскольку любые виды анестезии оказывают отрицательное влияние на дыхательную систему, необходимо обеспечение адекватной оксигенации органов. Эндотрахеальная интубация и механическая вентиляция помогают контролировать эффекты газообмена, в том числе за счет обогащения кислородом вдыхаемой газовой смеси. Применение интубации трахеи и искусственной вентиляции легких при моделировании инсульта ведут к снижению смертности оперируемых животных по сравнению с использованием спонтанного дыхания. Искусственная вентиляция легких при моделировании инсульта сопровождается уменьшением размеров инфаркта мозга.

Оксигенацию крови можно контролировать инвазивно, проводя анализ газов артериальной крови (напряжение кислорода — PaO_2 в мм рт. ст.) или неинвазивно — методом пульсоксиметрии (SpO_2 в %). Степень влияния анестетиков на функции дыхания и кровообращения зависит от дозы, поэтому использование меньших доз анестетиков имеет важное значение.

Мониторинг основных физиологических параметров во время анестезии необходим для обеспечения ее стабильности, улучшения воспроизводимости исследования, снижения летальности, осложнений в послеоперационном периоде. Для обеспечения физиологической стабильности необходимо использовать также неинвазивные методы мониторинга. В частности, пульсоксиметрия позволяет оценивать кардиореспираторные функции. Для стандартизации дыхательной функции при воспроизведении инсульта и при исследовании фМРТ, где очень важна стабильность

Neuroprotectors

In recent years, emphasis has been placed on the study of drugs and methods that possess neuroprotective properties in the experiment in animals and in patients with ischemic stroke [61, 62]. In particular, these properties exist in the vascular endothelial growth factor [63], cerebral miRNA [64], electroacupuncture [65], adropin [66], glia [67], nicotinamidadenine nucleotide phosphate [68], dimethylfumarate [69], hypothermia [70], and steroid hormones [71].

Neuroprotectors enhance resistance of central nervous system structures to oxygen starvation [72–74]. Anesthetics also have these properties, and their use has led to significant success in developing experimental models of human stroke.

Medical gas xenon has a neuroprotective effect [75]. Exceptional properties of xenon make it different from other neuroprotective agents, so it plays a special therapeutic role in stroke, both independently and in combination with other treatments. The neuroprotective effect of xenon can be mediated by N-methyl-D-aspartate receptor inhibition [76].

Neuroprotective effects of xenon delivered by xenon-containing echogenic liposomes through controlled ultrasound release in early brain damage after subarachnoid hemorrhage have been evaluated. Ultrasound imaging and electron microscopy have shown that liposomes containing xenon have a unique structure that allows its two-stage release. The use of xenon effectively inhibited bleeding, improved overall neurological function and reduced damage to motor function along with apoptotic neuronal death, as well as decreased mortality [77]. Neuroprotective effects were already shown in the blood xenon level of less than 20% of the estimated neuroprotective concentration [78].

Binding to the active center of several serine proteases is one of the unique properties of xenon. Since the active site of serine proteases is structurally conservative, xenon's ability to alter the catalytic activity of a serine protease plasminogen tissue activator (tPA) has been investigated. Molecular modelling and in vitro and in vivo studies have shown that: 1) xenon is a tPA inhibitor; 2) xenon inhibits tPA-induced thrombolysis; 3) in the post ischemic period, xenon inhibits ischemic brain damage, tPA-induced brain haemorrhage, and blood-brain barrier damage [79].

At the same time, stroke outcomes may be affected by the pharmacological effects of anesthetics on nervous function, their species-specific, medical and dose-specific effects on cerebral blood flow and metabolism, autoregulation, ischemic depolarization, excitotoxicity.

Anesthetics also modulate systemic blood pressure, respiratory function and thermoregulation.

PaCO₂, рекомендуется использовать капнографию. Для компенсации потерь жидкости следует вводить физиологический раствор или раствор Хартмана. Введение растворов при проведении анестезии должно осуществляться каждые 1–2 часа.

Послеоперационный период

Воспроизведение ишемии мозга в послеоперационном периоде приводит к развитию ряда изменений, сопровождающихся появлением клинических признаков. Выбор рационального протокола моделирования инсульта является решающим условием успешного исхода эксперимента [55, 56]. Для предотвращения переохлаждения животных необходимо контролировать температуру в помещении, где содержатся животные после операции. Для этих целей используют местные источники тепла. Контроль физиологических параметров осуществляется не менее четырех раз в день с регулярными интервалами в течение первых 48 часов. Контролируется масса тела, оценивается пищевой режим и потребление жидкости, взаимодействие животных, когнитивные функции, постинсультная депрессия [57–60]. Обязателен также контроль дыхания. Потеря веса после моделирования инсульта объясняется, главным образом, обезвоживанием, нарушением питания, снижением двигательной активности.

Нейропротекторы

В последние годы уделяется внимание изучению препаратов и методов воздействия, обладающих нейропротекторными свойствами в эксперименте на животных и у пациентов при ишемическом инсульте [61, 62]. В частности, такими свойствами обладают фактора роста эндотелия сосудов [63], церебральная miRNA [64], электроакупунктура [65], тропин [66], глия [67], никотинамидадениндинуклеотидфосфат [68], диметилфумарат [69], гипотермия [70], стероидные гормоны [71].

Нейропротекторы обеспечивают повышение устойчивости структур центральной нервной системы к кислородному голоданию [72–74]. Такими свойствами обладают анестетики. Их использование позволило добиться значительных успехов в разработке экспериментальных моделей инсульта человека.

К подобным препаратам относится медицинский газ ксенон, обладающий нейропротекторным эффектом [75]. Уникальные свойства ксенона отличают его от других нейропротекторных агентов, поэтому он играет особую терапевтическую роль при инсульте, как самостоятельно, так и в сочетании с другими методами

лечения. Нейропротективный эффект ксенона может быть опосредован ингибированием рецептора N-метил-D-аспартата [76].

Sevoflurane is another anesthetic with neuroprotective properties [81]. The influence of sevoflurane on the ATPase activity of hippocampus neurons in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury (IRI) through the signaling pathway of cyclic adenosine phosphate (cAMP) and protein kinase A (PKA) has been studied. Sevoflurane was found to enhance ATPase activity in rat hippocampus neurons with IRI in the brain by activating the signaling pathway cAMP-PKA [82].

Neuroprotective effects of pre-conditioning with estrogen and post-conditioning with sevoflurane have been identified in experimental animals on the stroke model in middle cerebral artery occlusion [83]. Sevoflurane pre-conditioning protected the brain from damage induced by ischemia-reperfusion by inhibiting miR-181a [84].

Conclusion

Thus, there are several experimental ischemic stroke models. The most adequate stroke model is the one using the blood flow occlusion in the middle cerebral artery territory. Two variants of this method allow obtaining massive brain infarcts (blood flow occlusion with subsequent reperfusion) and small infarcts (without blood flow restoration). This corresponds to different variants of ischemic stroke in humans.

When conducting experiments to model ischemic stroke at all stages of the experiment (in the pre-, peri-, and postoperative periods), it is necessary to observe the requirements for the accommodation and acclimatization of animals, the organization of nutrition and care, the choice of anesthesia and pain relief, the compliance with asepsis, monitoring of basic physiological parameters, humane withdrawal of animals from the experiment. It is important to train researchers, technicians, specialists in animal handling, who provide a high-quality performance of experiments, which is the main condition for obtaining reliable scientific data.

лечения. Нейропротективный эффект ксенона может быть опосредован ингибированием рецептора N-метил-D-аспартата [76].

Произведена оценка нейропротекторных эффектов ксенона, доставляемого ксенонсодержащими экзогенными липосомами посредством контролируемого ультразвуком высвобождения при раннем повреждении головного мозга после субарахноидального кровоизлияния. Ультразвуковая визуализация и электронная микроскопия показали, что липосомы, содержащие ксенон, имеют уникальную струк-

туру, которая позволяет осуществлять его двухэтапное высвобождение. Применение ксенона эффективно блокировало кровотечение, улучшало общую неврологическую функцию и уменьшало повреждение моторной функции в сочетании со снижением выраженности апоптотической гибели нейронов, а также снижало летальность [77]. Показано, что нейропротекторные эффекты могут быть получены при использовании концентрации ксенона в крови, составляющей менее 20% от расчетной нейропротекторной [78].

Неоценимым физико-химическим свойством ксенона является то, что этот газ связывается с активным центром ряда сериновых протеаз. Поскольку активный сайт сериновых протеаз является структурно консервативным, провели исследование, может ли ксенон изменять каталитическую активность тканевого активатора плазминогена (tPA), сериновой протеазы. Методом молекулярного моделирования и исследованиями *in vitro* и *in vivo* было показано, что: 1) ксенон является ингибитором tPA; 2) ксенон ингибирует tPA-индуцированный тромболизис; 3) в постишемическом периоде ксенон подавляет ишемическое повреждение головного мозга и tPA-индуцированные кровоизлияния в мозг, повреждение гематоэнцефалического барьера [79].

В то же время, на исходы инсульта может влиять фармакологическое воздействие анестетиков на нервную функцию, их видоспецифическое, лекарственное и дозоспецифическое воздействие на мозговую кровоток и обмен веществ, ауторегуляцию, ишемическую деполаризацию, эксцитотоксичность.

Анестетики также модулируют системное артериальное давление, функцию внешнего дыхания и терморегуляцию, изменение которых может оказывать воздействие как на процессы развития ишемического инсульта, так и эффективность терапевтических вмешательств [80].

Другим анестетиком, обладающим нейропротекторными свойствами, является севофлуран [81]. Исследовано влияние севофлурана на АТФазную активность нейронов гиппокампа у крыс с церебральной ишемией-

реперфузионным повреждением через сигнальный путь циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и протеинкиназы А (ПКА). Установлено, что севофлуран усиливает АТФазную активность в нейронах гиппокампа крыс с ИРИ в головном мозге посредством активации сигнального пути цАМФ-ПКА [82].

На модели инсульта при окклюзии средней мозговой артерии у экспериментальных животных выявлены нейропротекторные эффекты предварительного кондиционирования с помощью эстрогена и посткондиционирования при использовании севофлурана [83]. Предварительное кондиционирование севофлураном защищало мозг от повреждения, индуцируемого ишемией-реперфузией путем ингибирования miR-181a [84].

Заключение

Таким образом, существует ряд экспериментальных моделей воспроизведения ишемического инсульта. Наиболее адекватной моделью инсульта является метод, основанный на блокировании кровотока в бассейне средней мозговой артерии. Два варианта данного способа позволяют получить массивные инфаркты мозга (блокада кровотока с последующей реперфузией) и инфаркты небольших размеров (без восстановления кровотока). Это соответствует различным вариантам ишемического инсульта у человека.

При проведении экспериментов по моделированию ишемического инсульта на всех этапах эксперимента (в дооперационном периоде, во время операции и в послеоперационном периоде) необходимо соблюдать требования, предъявляемые к размещению и акклиматизации животных, организации питания и ухода, выбору метода анестезии и обезболивания, к соблюдению асептики, мониторингованию основных физиологических параметров, гуманному выведению животных из эксперимента. Важна подготовка исследователей, техников, специалистов по работе с животными, обеспечивающими качественное выполнение экспериментов, что является основным условием получения достоверных научных данных.

Литература

1. Guzik A., Bushnell C. Stroke Epidemiology and Risk Factor Management. *Continuum (Minneapolis Minn)*. 2017; 23 (1, Cerebrovascular Disease): 15–39. DOI: 10.1212/CON.0000000000000416.
2. Thrift A.G., Howard G., Cadilhac D.A., Howard V.J., Rothwell P.M., Thayabaranathan T., Feigin V.L., Norrving B., Donnan G.A. Global stroke statistics: An update of mortality data from countries using a broad code of «cerebrovascular diseases». *Int J Stroke*. 2017; 12 (8): 796–801. DOI: 10.1177/1747493017730782.
3. Cadilhac D.A., Andrew N.E., Kilkenny M.F., Hill K., Grabsch B., Lannin N.A., Thrift A.G., Anderson C.S., Donnan G.A., Middleton S., Grimley R. Improving quality and outcomes of stroke care in hospitals: Protocol and statistical analysis plan for the Stroke123 implementation study. *Int J Stroke*. 2018; 13 (1): 96–106. DOI: 10.1177/1747493017730741.

References

1. Guzik A., Bushnell C. Stroke Epidemiology and Risk Factor Management. *Continuum (Minneapolis Minn)*. 2017; 23 (1, Cerebrovascular Disease): 15–39. DOI: 10.1212/CON.0000000000000416.
2. Thrift A.G., Howard G., Cadilhac D.A., Howard V.J., Rothwell P.M., Thayabaranathan T., Feigin V.L., Norrving B., Donnan G.A. Global stroke statistics: An update of mortality data from countries using a broad code of «cerebrovascular diseases». *Int J Stroke*. 2017; 12 (8): 796–801. DOI: 10.1177/1747493017730782.
3. Cadilhac D.A., Andrew N.E., Kilkenny M.F., Hill K., Grabsch B., Lannin N.A., Thrift A.G., Anderson C.S., Donnan G.A., Middleton S., Grimley R. Improving quality and outcomes of stroke care in hospitals: Protocol and statistical analysis plan for the Stroke123 implementation study. *Int J Stroke*. 2018; 13 (1): 96–106. DOI: 10.1177/1747493017730741.

4. Wang W, Jiang B, Sun H, Ru X, Sun D, Wang L, Wang L, Jiang Y, Li Y, Wang Y, Chen Z, Wu S, Zhang Y, Wang D, Wang Y, Feigin V.L. NESS-China Investigators. Prevalence, Incidence, and Mortality of Stroke in China: Results from a Nationwide Population-Based Survey of 480 687 Adults. *Circulation*. 2017; 135 (8): 759–771. Available at: DOI: 10.1161/CIRCULATION-NAHA.116.025250. (accessed 22.02.2019).
5. Saber H, Amiri A, Thrift A.G., Stranges S., Bavarsad Shahripour R., Farzadfard M.T., Mokhter N., Behrouz R., Azarpazhooh M.R. Epidemiology of Intracranial and Extracranial Large Artery Stenosis in a Population-Based Study of Stroke in the Middle East. *Neuroepidemiology*. 2017; 48 (3–4): 188–192. DOI: 10.1159/000479519
6. Cruz C., Campuzano-Rincón J.C., Calleja-Castillo J.M., Hernández-Álvarez A., Parra M.D., Moreno-Macias H., Hernández-Girón C. Temporal Trends in Mortality from Ischemic and Hemorrhagic Stroke in Mexico, 1980–2012. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017 Apr; 26 (4): 725–732. DOI: DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.09.042
7. Узденский А.Б., Демьяненко С.В. Фототромботический инсульт Биохимия пенумбры. Ростов-на-Дону. 2016. ISBN 978-5-9275-2131-9.
8. Филимонов Д.А., Евтушенко С.К., Трубникова Н.Н., Белоцерковская М.А., Самойлов В.Г. Моделирование фокальной церебральной ишемии путем окклюзии средней мозговой артерии в дистальной и проксимальной ее частях. *Вестник неотложной и восстановительной хирургии*. 2018; 3 (1): 58–68.
9. Девятков А.А. Оценка репрезентативности показателей тяжести ишемического поражения мозга у крыс. *Вопросы питания*. 2016; 85 (S2): 230.
10. The IMPROVE Guidelines (Ischaemia Models: Procedural Refinements Of *in Vivo* Experiments). *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017 Nov; 37 (11): 3488–3517. DOI: 10.1177/0271678X17709185. PMID: PMC5669349. PMID: 28797196.
11. Wayman C., Duricki D.A., Roy L.A., Haenzi B., Tsai S.Y., Kartje G., Beech J.S., Cash D., Moon L. Performing Permanent Distal Middle Cerebral with Common Carotid Artery Occlusion in Aged Rats to Study Cortical Ischemia with Sustained Disability. *J Vis Exp*. 2016; (108): 53106. DOI: 10.3791/53106.
12. Fluri E, Schuhmann M.K., Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des Dev Ther*. 2015; 9: 3445–3454. PMID: 26170628. PMID: PMC4494187. DOI: 10.2147/DDDT.S56071
13. Durukan Tolvanen A., Tatlisumak E., Pedrono E., Abo-Ramadan U., Tatlisumak T.TIA model is attainable in Wistar rats by intraluminal occlusion of the MCA for 10min or shorter. *Brain Res*. 2017; 1663: 166–173. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.03.010.
14. Crupi R., Di Paola R., Esposito E., Cuzzocrea S. Middle Cerebral Artery Occlusion by an Intraluminal Suture Method. *Methods Mol Biol*. 2018; 1727: 393–401. PMID: 29222799. DOI: 10.1007/978-1-4939-7571-6_31.
15. Pedder H., Vesterinen H.M., Macleod M.R., Wardlaw J.M. Systematic review and meta-analysis of interventions tested in animal models of lacunar stroke. *Stroke*. 2014; 45 (2): 563–570. DOI: 10.1161/STROKEAHA.113.003128.
16. Bailey E.L., McCulloch J., Sudlow C., Wardlaw J.M. Potential animal models of lacunar stroke: a systematic review. *Stroke*. 2009 Jun; 40 (6): e451–8. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.528430.
17. Sommer C.J. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathol*. 2017; 133 (2): 245–261. DOI: 10.1007/s00401-017-1667-0.
18. Grifoni E., Giglio D., Guazzini G., Cosentino E., Latini E., Dei A., Del Rosso A., Guarnaccia V., Baldini M., Bartolozzi M.L., Martinucci P., Sani E., Giordano A., Dainelli E., Maggi F., Giulietti C., Romagnoli M., Cinotti S., Schipani E., Murgida G.S., Di Martino S., Cozzi A., Carli Ballola A., Dacomo D., Valori D., Masotti L. Age-related burden and characteristics of embolic stroke of undetermined source in the real world clinical practice. *J Thromb Thrombolysis*. 2019 Sep 7. DOI: 10.1007/s11239-019-01951-5.
19. Kamel H., Healey J.S. Cardioembolic Stroke. *Circ Res*. 2017; 120 (3): 514–526. PMID: 28154101. PMID: PMC5312810. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308407.
20. Uzdensky A.B. Photothrombotic Stroke as a Model of Ischemic Stroke. *Transl Stroke Res*. 2018; 9 (5): 437–451. PMID: 29188434. DOI: 10.1007/s12975-017-0593-8.
21. Fiebig C., Keiner S., Ebert B., Schäffner I., Jagasia R., Lie D.C., Becker-vordersandforth R. Mitochondrial Dysfunction in Astrocytes Impairs the Generation of Reactive Astrocytes and Enhances Neuronal Cell Death in the Cortex Upon Photothrombotic Lesion. *Front Mol Neurosci*. 2019; 12: 40. PMID: 30853890. PMID: PMC6395449. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00040.
22. Chen Y., Zhu W., Zhang W., Libal N., Murphy S.J., Offner H., Alkayed N.J. A novel mouse model of thromboembolic stroke. *J Neurosci Methods*. 2015; 256: 203–211. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2015.09.013.
23. Katsumata M., Oki K., Tsukada N., Abe T., Itoh Y., Takahashi S., Suzuki N. Rivaroxaban Promotes Reduction of Embolus Size within Cerebrocortical Microvessels in a Mouse Model of Embolic Stroke. *Keio J Med*. 2018; 68 (3): 45–53. DOI: 10.2302/kjm.2018-0010-OA.
24. Fluri E, Schuhmann M.K., Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des Devel Ther*. 2015; 9: 3445–3454. PMID: 26170628. PMID: PMC4494187. DOI: 10.2147/DDDT.S56071.
25. Dojo Soeandy C., Salmasi F., Latif M., Elia A.J., Suo N.J., Henderson J.T. Endothelin-1-mediated cerebral ischemia in mice: early cellular events and the role of caspase-3. *Apoptosis*. 2019; 24 (7–8): 578–595. PMID: 31073782. DOI: 10.1007/s10495-019-01541-z.
4. Wang W, Jiang B, Sun H, Ru X, Sun D, Wang L, Wang L, Jiang Y, Li Y, Wang Y, Chen Z, Wu S, Zhang Y, Wang D, Wang Y, Feigin V.L. NESS-China Investigators. Prevalence, Incidence, and Mortality of Stroke in China: Results from a Nationwide Population-Based Survey of 480 687 Adults. *Circulation*. 2017; 135 (8): 759–771. Available at: DOI: 10.1161/CIRCULATION-NAHA.116.025250. (accessed 22.02.2019).
5. Saber H, Amiri A, Thrift A.G., Stranges S., Bavarsad Shahripour R., Farzadfard M.T., Mokhter N., Behrouz R., Azarpazhooh M.R. Epidemiology of Intracranial and Extracranial Large Artery Stenosis in a Population-Based Study of Stroke in the Middle East. *Neuroepidemiology*. 2017; 48 (3–4): 188–192. DOI: 10.1159/000479519
6. Cruz C., Campuzano-Rincón J.C., Calleja-Castillo J.M., Hernández-Álvarez A., Parra M.D., Moreno-Macias H., Hernández-Girón C. Temporal Trends in Mortality from Ischemic and Hemorrhagic Stroke in Mexico, 1980–2012. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017 Apr; 26 (4): 725–732. DOI: DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.09.042
7. Uzdenskiy A.B., Demyanenko S.V. Photothrombotic stroke. *Biokhimiya penumbry*:Rostov-on-Don. 2016. [In Russ.] ISBN 978-5-9275-2131-9.
8. Filimonov D.A., Evtushenko S.K., Trubnikova N.N., Belocerovskaya M.A., Samojlov V.G. Modeling focal cerebral ischemia by occlusion of the middle cerebral artery in its distal and proximal parts. *Vestnik neotlozhnoj i vosstanovitelnoj khirurgii*. 2018; 3 (1): 58–68. [In Russ.].
9. Devyatov A.A. Assessment of the representativeness of severity indicators of ischemic brain damage in rats. *Voprosy pitaniya*. 2016; 85 (S2): 230. [In Russ.].
10. The IMPROVE Guidelines (Ischaemia Models: Procedural Refinements Of *in Vivo* Experiments) *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017 Nov; 37 (11): 3488–3517. DOI: 10.1177/0271678X17709185. PMID: PMC5669349. PMID: 28797196.
11. Wayman C., Duricki D.A., Roy L.A., Haenzi B., Tsai S.Y., Kartje G., Beech J.S., Cash D., Moon L. Performing Permanent Distal Middle Cerebral with Common Carotid Artery Occlusion in Aged Rats to Study Cortical Ischemia with Sustained Disability. *J Vis Exp*. 2016; (108): 53106. DOI: 10.3791/53106.
12. Fluri E, Schuhmann M.K., Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des Dev Ther*. 2015; 9: 3445–3454. PMID: 26170628. PMID: PMC4494187. DOI: 10.2147/DDDT.S56071
13. Durukan Tolvanen A., Tatlisumak E., Pedrono E., Abo-Ramadan U., Tatlisumak T.TIA model is attainable in Wistar rats by intraluminal occlusion of the MCA for 10min or shorter. *Brain Res*. 2017; 1663: 166–173. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.03.010.
14. Crupi R., Di Paola R., Esposito E., Cuzzocrea S. Middle Cerebral Artery Occlusion by an Intraluminal Suture Method. *Methods Mol Biol*. 2018; 1727: 393–401. PMID: 29222799. DOI: 10.1007/978-1-4939-7571-6_31.
15. Pedder H., Vesterinen H.M., Macleod M.R., Wardlaw J.M. Systematic review and meta-analysis of interventions tested in animal models of lacunar stroke. *Stroke*. 2014; 45 (2): 563–570. DOI: 10.1161/STROKEAHA.113.003128.
16. Bailey E.L., McCulloch J., Sudlow C., Wardlaw J.M. Potential animal models of lacunar stroke: a systematic review. *Stroke*. 2009 Jun; 40 (6): e451–8. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.528430.
17. Sommer C.J. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathol*. 2017; 133 (2): 245–261. DOI: 10.1007/s00401-017-1667-0.
18. Grifoni E., Giglio D., Guazzini G., Cosentino E., Latini E., Dei A., Del Rosso A., Guarnaccia V., Baldini M., Bartolozzi M.L., Martinucci P., Sani E., Giordano A., Dainelli E., Maggi F., Giulietti C., Romagnoli M., Cinotti S., Schipani E., Murgida G.S., Di Martino S., Cozzi A., Carli Ballola A., Dacomo D., Valori D., Masotti L. Age-related burden and characteristics of embolic stroke of undetermined source in the real world clinical practice. *J Thromb Thrombolysis*. 2019 Sep 7. DOI: 10.1007/s11239-019-01951-5.
19. Kamel H., Healey J.S. Cardioembolic Stroke. *Circ Res*. 2017; 120 (3): 514–526. PMID: 28154101. PMID: PMC5312810. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308407.
20. Uzdensky A.B. Photothrombotic Stroke as a Model of Ischemic Stroke. *Transl Stroke Res*. 2018; 9 (5): 437–451. PMID: 29188434. DOI: 10.1007/s12975-017-0593-8.
21. Fiebig C., Keiner S., Ebert B., Schäffner I., Jagasia R., Lie D.C., Becker-vordersandforth R. Mitochondrial Dysfunction in Astrocytes Impairs the Generation of Reactive Astrocytes and Enhances Neuronal Cell Death in the Cortex Upon Photothrombotic Lesion. *Front Mol Neurosci*. 2019; 12: 40. PMID: 30853890. PMID: PMC6395449. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00040.
22. Chen Y., Zhu W., Zhang W., Libal N., Murphy S.J., Offner H., Alkayed N.J. A novel mouse model of thromboembolic stroke. *J Neurosci Methods*. 2015; 256: 203–211. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2015.09.013.
23. Katsumata M., Oki K., Tsukada N., Abe T., Itoh Y., Takahashi S., Suzuki N. Rivaroxaban Promotes Reduction of Embolus Size within Cerebrocortical Microvessels in a Mouse Model of Embolic Stroke. *Keio J Med*. 2018; 68 (3): 45–53. DOI: 10.2302/kjm.2018-0010-OA.
24. Fluri E, Schuhmann M.K., Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des Devel Ther*. 2015; 9: 3445–3454. PMID: 26170628. PMID: PMC4494187. DOI: 10.2147/DDDT.S56071.
25. Dojo Soeandy C., Salmasi F., Latif M., Elia A.J., Suo N.J., Henderson J.T. Endothelin-1-mediated cerebral ischemia in mice: early cellular events and the role of caspase-3. *Apoptosis*. 2019; 24 (7–8): 578–595. PMID: 31073782. DOI: 10.1007/s10495-019-01541-z.

26. Fan J., Li Y., Fu X., Li L., Hao X., Li S. Nonhuman primate models of focal cerebral ischemia. *Neural Regen Res.* 2017; 12 (2): 321–328. PMID: 28400817. PMCID: PMC5361519. DOI: 10.4103/1673-5374.200815.
27. Llovera G., Roth S., Plesnila N., Veltkamp N., Liesz A. Modeling stroke in mice: permanent coagulation of the distal middle cerebral artery. *J Vis Exp.* 2014; (89): e51729. PMID: 25145316. PMCID: PMC4692348. DOI: 10.3791/51729.
28. Kamel H., Okin P.M., Elkind M.S., Iadecola C. Atrial Fibrillation and Mechanisms of Stroke: Time for a New Model. *Stroke.* 2016; 47 (3): 895–900. PMID: 26786114. PMCID: PMC4766055. DOI: 10.1161/STROKEAHA.115.012004
29. Kumar A., Aakriti., Gupta V. A review on animal models of stroke: An update. *Brain Res Bull.* 2016; 122: 35–44. PMID: 26902651. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2016.02.016
30. European Commission. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official J Eur Union 2010; 53: 33–79.
31. Swallow J., Anderson D., Buckwell A.C., Harris T., Hawkins P., Kirkwood J., Lomas M., Meacham S., Peters A., Prescott M., Owen S., Quest R., Sutcliffe R., Thompson K.; Transport Working Group, Laboratory Animal Science Association (LASA). Guidance on the transport of laboratory animals. *Lab Anim.* 2005; 39 (1): 1–39. PMID: 15703122. DOI: 10.1258/0023677052886493
32. Shinozuka K., Tajiri N., Ischikawa H., Tuazon J.P., Lee J.Y., Sanberg P.R., Zariwello S., Corey S., Kaneko Y., Borlongan C. Empathy in stroke rats is modulated by social settings. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2019; 1: 271678X19867908. DOI: 10.1177/0271678X19867908.
33. Mering S., Jolkkonen J. Proper housing conditions in experimental stroke studies-special emphasis on environmental enrichment. *Front Neurosci.* 2015; 9: 106. DOI: 10.3389/fnins.2015.00106. eCollection 2015.
34. Gomez-Smith M., Janik R., Adams C., Lake E.M., Thomason LAM., Jeffers MS., Stefanovic B., Corbett D. Reduced Cerebrovascular Reactivity and increased Resting Cerebral Perfusion in Rats Exposed to a Cafeteria Diet. *Neuroscience.* 2018. 371: 166–177. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.11.054.
35. Watanabe H., Sasatani M., Doi T., Masaki T., Satoh K., Yoshizumi M. Protective Effects of Japanese Soybean Paste (Miso) on Stroke in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats (SHRSP). *Am. J. Hypertens.* 2017; 31 (1): 43–47. PMID: 28985324. DOI: 10.1093/ajh/hpx129.
36. Benakis C., Brea D., Caballero S., Faraco G., Moore J., Murphy M., Sita G., Racchumi G., Ling L., Pamer E.G., Iadecola C., Anrather J. Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal gammadelta T cells. *Nat Med.* 2016 05 28; 22 (5): 516–523. DOI: 10.1038/nm.4068
37. Singh V., Roth S., Llovera G., Sadler R., Garzetti D., Stecher B., Dichgans M., Liesz A. Microbiota Dysbiosis Controls the Neuroinflammatory Response after Stroke. *J Neurosci.* 2016; 36 (28): 7428–7440. PMID: 27413153. PMCID: PMC6705544. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1114-16.2016
38. Houlden A., Goldrick M., Brough D., Vizi E.S., Lénárt N., Martinecz B., Roberts I.S., Denes A. Brain injury induces specific changes in the caecal microbiota of mice via altered autonomic activity and mucoprotein production. *Brain Behav Immun.* 2016; 57: 10–20. PMID: 27060191. PMCID: PMC5021180. DOI: 10.1016/j.bbi.2016.04.003
39. Winek K., Engel O., Koduah P., Heimesaat M.M., Fischer A., Bereswill S., Dames C., Kershaw O., Gruber A.D., Curato C., Oyama N., Meisel C., Meisel A., Dirnagl U. Depletion of cultivatable gut microbiota by broad-spectrum antibiotic pretreatment worsens outcome after murine stroke. *Stroke.* 2016; 47: 1354–1363. PMID: 27056982. PMCID: PMC4839545. DOI: 10.1161/STROKEAHA.115.011800
40. Trotman-Lucas M., Kelly M.E., Janus J., Gibson C.L. Middle Cerebral Artery Occlusion Allowing Reperfusion via Common Carotid Artery Repair in Mice. *J. Vis. Exp.* 2019; 143. PMID: 30735149. DOI: 10.3791/58191.
41. Yao Y., Nabika T. Standards and pitfalls of focal ischemia models in spontaneously hypertensive rats with a systematic review of recent articles. *J. Transl. Med.* 2012; 10: 139. PMID: 22770528. PMCID: PMC3579704. DOI: 10.1186/1479-5876-10-139
42. Misir M., Renic M., Mihalj M., Novak S., Drenjancevic I. Is shorter transient middle cerebral artery occlusion (t-MCAO) duration better in stroke experiments on diabetic female Sprague Dawley rats? *Brain inj.* 2016; 30 (11): 1390–1396. PMID: 27541599. DOI: 10.1080/02699052.2016.1195518
43. Thomas A., Detilleux J., Flecknell P., Sandersen C. Impact of Stroke Therapy Academic Industry Roundtable (STAIR) Guidelines on peri-anesthesia care for rat models of stroke: a meta-analysis comparing the years 2005 and 2015. *PLoS One* 2017; 12: e0170243. PMID: 28122007. PMCID: PMC5266292. DOI: 10.1371/journal.pone.0170243
44. Hoffmann U., Sheng, Ayata C., Warner D.S. Anesthesia in Experimental Stroke Research. *Transl. Stroke Res.* 2016; 7 (5) 358–367. DOI: 10.1007/s12975-016-0491-5.
45. Ruxanda E., Gal A.E., Ratiu C., Miclaus V., Rus V., Oana L.I. Comparative immunohistochemical assessment of the effect of repetitive anesthesia with isoflurane and sevoflurane on rat liver. *Braz.J.Anesthesiol.* 2016; 66 (5): 465–469. PMID: 27591459. DOI: 10.1016/j.bjane.2015.02.003
46. Romero A., Moreno A., Garcia J., Sanchez C., Santos M., Garcia J. Effects of sevoflurane on ventilator induced lung injury in a healthy lung experimental model. *Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.* 2016; 63 (1): 22–28. PMID: 26143338. DOI: 10.1016/j.redar.2015.04.006
26. Fan J., Li Y., Fu X., Li L., Hao X., Li S. Nonhuman primate models of focal cerebral ischemia. *Neural Regen Res.* 2017; 12 (2): 321–328. PMID: 28400817. PMCID: PMC5361519. DOI: 10.4103/1673-5374.200815.
27. Llovera G., Roth S., Plesnila N., Veltkamp N., Liesz A. Modeling stroke in mice: permanent coagulation of the distal middle cerebral artery. *J Vis Exp.* 2014; (89): e51729. PMID: 25145316. PMCID: PMC4692348. DOI: 10.3791/51729.
28. Kamel H., Okin P.M., Elkind M.S., Iadecola C. Atrial Fibrillation and Mechanisms of Stroke: Time for a New Model. *Stroke.* 2016; 47 (3): 895–900. PMID: 26786114. PMCID: PMC4766055. DOI: 10.1161/STROKEAHA.115.012004
29. Kumar A., Aakriti., Gupta V. A review on animal models of stroke: An update. *Brain Res Bull.* 2016; 122: 35–44. PMID: 26902651. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2016.02.016
30. European Commission. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official J Eur Union 2010; 53: 33–79.
31. Swallow J., Anderson D., Buckwell A.C., Harris T., Hawkins P., Kirkwood J., Lomas M., Meacham S., Peters A., Prescott M., Owen S., Quest R., Sutcliffe R., Thompson K.; Transport Working Group, Laboratory Animal Science Association (LASA). Guidance on the transport of laboratory animals. *Lab Anim.* 2005; 39 (1): 1–39. PMID: 15703122. DOI: 10.1258/0023677052886493
32. Shinozuka K., Tajiri N., Ischikawa H., Tuazon J.P., Lee J.Y., Sanberg P.R., Zariwello S., Corey S., Kaneko Y., Borlongan C. Empathy in stroke rats is modulated by social settings. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2019; 1: 271678X19867908. DOI: 10.1177/0271678X19867908.
33. Mering S., Jolkkonen J. Proper housing conditions in experimental stroke studies-special emphasis on environmental enrichment. *Front Neurosci.* 2015; 9: 106. DOI: 10.3389/fnins.2015.00106. eCollection 2015.
34. Gomez-Smith M., Janik R., Adams C., Lake E.M., Thomason LAM., Jeffers MS., Stefanovic B., Corbett D. Reduced Cerebrovascular Reactivity and increased Resting Cerebral Perfusion in Rats Exposed to a Cafeteria Diet. *Neuroscience.* 2018. 371: 166–177. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.11.054.
35. Watanabe H., Sasatani M., Doi T., Masaki T., Satoh K., Yoshizumi M. Protective Effects of Japanese Soybean Paste (Miso) on Stroke in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats (SHRSP). *Am. J. Hypertens.* 2017; 31 (1): 43–47. PMID: 28985324. DOI: 10.1093/ajh/hpx129.
36. Benakis C., Brea D., Caballero S., Faraco G., Moore J., Murphy M., Sita G., Racchumi G., Ling L., Pamer E.G., Iadecola C., Anrather J. Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal gammadelta T cells. *Nat Med.* 2016 05 28; 22 (5): 516–523. DOI: 10.1038/nm.4068
37. Singh V., Roth S., Llovera G., Sadler R., Garzetti D., Stecher B., Dichgans M., Liesz A. Microbiota Dysbiosis Controls the Neuroinflammatory Response after Stroke. *J Neurosci.* 2016; 36 (28): 7428–7440. PMID: 27413153. PMCID: PMC6705544. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1114-16.2016
38. Houlden A., Goldrick M., Brough D., Vizi E.S., Lénárt N., Martinecz B., Roberts I.S., Denes A. Brain injury induces specific changes in the caecal microbiota of mice via altered autonomic activity and mucoprotein production. *Brain Behav Immun.* 2016; 57: 10–20. PMID: 27060191. PMCID: PMC5021180. DOI: 10.1016/j.bbi.2016.04.003
39. Winek K., Engel O., Koduah P., Heimesaat M.M., Fischer A., Bereswill S., Dames C., Kershaw O., Gruber A.D., Curato C., Oyama N., Meisel C., Meisel A., Dirnagl U. Depletion of cultivatable gut microbiota by broad-spectrum antibiotic pretreatment worsens outcome after murine stroke. *Stroke.* 2016; 47: 1354–1363. PMID: 27056982. PMCID: PMC4839545. DOI: 10.1161/STROKEAHA.115.011800
40. Trotman-Lucas M., Kelly M.E., Janus J., Gibson C.L. Middle Cerebral Artery Occlusion Allowing Reperfusion via Common Carotid Artery Repair in Mice. *J. Vis. Exp.* 2019; 143. PMID: 30735149. DOI: 10.3791/58191.
41. Yao Y., Nabika T. Standards and pitfalls of focal ischemia models in spontaneously hypertensive rats with a systematic review of recent articles. *J. Transl. Med.* 2012; 10: 139. PMID: 22770528. PMCID: PMC3579704. DOI: 10.1186/1479-5876-10-139
42. Misir M., Renic M., Mihalj M., Novak S., Drenjancevic I. Is shorter transient middle cerebral artery occlusion (t-MCAO) duration better in stroke experiments on diabetic female Sprague Dawley rats? *Brain inj.* 2016; 30 (11): 1390–1396. PMID: 27541599. DOI: 10.1080/02699052.2016.1195518
43. Thomas A., Detilleux J., Flecknell P., Sandersen C. Impact of Stroke Therapy Academic Industry Roundtable (STAIR) Guidelines on peri-anesthesia care for rat models of stroke: a meta-analysis comparing the years 2005 and 2015. *PLoS One* 2017; 12: e0170243. PMID: 28122007. PMCID: PMC5266292. DOI: 10.1371/journal.pone.0170243
44. Hoffmann U., Sheng, Ayata C., Warner D.S. Anesthesia in Experimental Stroke Research. *Transl. Stroke Res.* 2016; 7 (5) 358–367. DOI: 10.1007/s12975-016-0491-5.
45. Ruxanda E., Gal A.E., Ratiu C., Miclaus V., Rus V., Oana L.I. Comparative immunohistochemical assessment of the effect of repetitive anesthesia with isoflurane and sevoflurane on rat liver. *Braz.J.Anesthesiol.* 2016; 66 (5): 465–469. PMID: 27591459. DOI: 10.1016/j.bjane.2015.02.003
46. Romero A., Moreno A., Garcia J., Sanchez C., Santos M., Garcia J. Effects of sevoflurane on ventilator induced lung injury in a healthy lung experimental model. *Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.* 2016; 63 (1): 22–28. PMID: 26143338. DOI: 10.1016/j.redar.2015.04.006

47. Hanci V, Gille K, Karakaya K, Yurtlu S, Akrolat M, Yuce M.F, Yuce FZ., Turan I.O. Rectal dexmedetomidine in rats: evaluation of sedative and mucosal effects. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2015; 65 (1): 1–6. PMID: 25497742. DOI: 10.1016/j.bjan.2013.09.004
48. Nai G.A., de Oliveira M.C., de Oliveira Tavares G., Pereira L.F., Soares N.D., Silva P.G. Evaluation of genotoxicity induced by repetitive administration of local anaesthetics: an experimental study in rats. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2015; 65 (1): 21–26. DOI: 10.1016/j.bjan.2013.07.006.
49. Whittaker A.L, Howarth G.S. Use of spontaneous behaviour measures to assess pain in laboratory rats and mice: how are we progressing? *Appl Anim Behav Sci* 2014; 151: 1–12. DOI: 10.1016/j.applanim.2013.11.001
50. Sacerdote P, Franchi S., Panerai A.E. Non-analgesic effects of opioids: mechanisms and potential clinical relevance of opioid-induced immunodepression. *Curr Pharm Des.* 2012; 18: 6034–6042. PMID: 22747535. DOI: 10.2174/138161212803582469
51. Sauer M., Fleischmann T., Lipiski M., Arras.M. Buprenorphine via drinking water and combined oral-injection protocols for pain relief in mice. *Appl Anim Behav Sci.* 2016; 185: 103–112. DOI: 10.1016/j.applanim.2016.09.009
52. Kesici S., Kesici U., Ulusoy H., Ertukuner P, Turkmen A., Arda O. Effects of local anesthetics on wound healing. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2018; 68 (4): 375–382. DOI: 10.1016/j.bjan.2018.01.016.
53. Stanley D., Mason L.J., Mackin K.E., Srikantha Y. Translocation and dissemination of commensal bacteria in post-stroke infection. *Nat Med.* 2016; 22: 1277–1284. DOI: 10.1038/nm.4194
54. Yenari M.A., Han H.S. Neuroprotective mechanisms of hypothermia in brain ischaemia. *Nat Rev Neurosci.* 2012; 13: 267–278. PMID: 22353781. DOI: 10.1038/nrn3174
55. Lee J.S., Song D.J., Hong J.H., Kim T.S., Joo S.P. Diverse Ischemic Postconditioning Protocols Affect the infarction Size in focal ischemic Stroke. *J. Cerebrovasc. Neurosurg.* 2018; 20 (3): 159–167. DOI: 10/7461/jcen.2018.20.3.159.
56. Balkaya M.G., Trueman R.C., Boltz J., Corbett D., Jolkkonen J. Behavioral outcome measures to improve experimental stroke research. *Behav. Brain Res.* 2018; 352: 161–171. PMID: 28760700. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.07.039
57. Scherbakov N., Dirnagl U., Doeberner W. Body weight after stroke: lessons from the obesity paradox. *Stroke.* 2011; 42: 3646–3650. PMID: 21960580. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.619163
58. Venna V.R., Xu Y., Doran S.J., Patrizz A., McCullough L.D. Social interaction plays a critical role in neurogenesis and recovery after stroke. *Translational Psychiatry* 2014; 4: e351. PMID: 24473442. PMID: PMC3905235. DOI: 10.1038/tp.2013.128
59. Emik U., Unal Y., Arslan M., Demirel C.B. The effects of memantine on recovery, cognitive functions, and pain after propofol anesthesia. *Braz. J. Anesthesiol.* 2016; 66 (5): 485–491. PMID: 27591462. DOI: 10.1016/j.bjane.2015.03.002
60. Ifergane G., Boyko M., Frank D., Shiyntum H.N., Grinshpun J., Kuts R., Geva A., Kaplan Z., Zeldetz V., Cohen Y. Biological and Behavioral Patterns of Post-Stroke Depression in Rats. *Can. J. Neurol. Sci.* 2018; 45 (4): 451–461. PMID: 29880078. DOI: 10.1017/cjn.2017.302
61. Toman N.G., Grande A.W., Low W.C. Neural Repair in Stroke. *Cell Transplant.* 2019; 28 (9–10): 1123–1126. PMID: 31353939. PMID: PMC6767877. DOI: 10.1177/0963689719863784
62. Xu P, Zhang X., Liu Q., Xie Y., Shi X., Chen J., Li Y., Guo H., Sun R., Hong Y., Liu X., Xu G. Microglial TREM-1 receptor mediates neuroinflammatory injury via interaction with SYK in experimental ischemic stroke. *Cell Death Dis.* 2019; 10 (8): 555. DOI: 10.1038/s41441-019-1777-9.
63. Cardenas-Rivera A., Campero-Romero A.N., Heras-Romero Y., Penagos-Puig A., Rincon-Heredia R., Tovar-Y-Romo L.B. Early Post-stroke Activation of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 Hinders the Receptor 1-Dependent Neuroprotection Afforded by the Endogenous Ligand. *Front Cell Neurosci.* 2019; 13: 270. DOI: 10.3389/fncel.2019.00270
64. Altintas O., Ozgen Altintas M., Kumas M., Asil T. Neuroprotective effect of ischemic preconditioning via modulating the expression of cerebral miRNAs against transient cerebral ischemia in diabetic rats. *Neurol. Res.* 2016; 38 (11): 1003–1011. PMID: 27635859. DOI: 10.1080/01616412.2016.1232013
65. Xing Y., Yang S.D., Wang M.M., Dong F., Feng Y.S., Zhang F. Electroacupuncture Alleviated Neuronal Apoptosis Following Ischemic Stroke in Rats via Midkine and ERK/JNK/p38 Signaling Pathway. *J.Mol. Neurosci.* 2018; 66 (1): 26–36. DOI: 10.1007/s12031-018-1142-y.
66. Altintas O., Kumas M., Altintas M. Neuroprotective effect of ischemic preconditioning via modulating the expression of adropin and oxidative markers against transient cerebral ischemia in diabetic rats. *Peptides.* 2016; 79: 31–38. PMID: 27020247. DOI: 10.1016/j.peptides.2016.03.011
67. McDonough A., Weinstein J.R. The role microglia in ischemic preconditioning. *Glia.* 2019; 68 (3), 455–471. PMID: 31386233. DOI: 10.1002/glia.23695
68. Ли М., Зю З.-П., Сан М., Као Л., Чен Дж., Кин И.-Т., Гу Дж.-Г., Хан Ф., Шенг Р., Ву Дж.-Л., Динг И., Кин З.-Г. Восстановленный никотинамидаденилдинуклеотид-фосфат, продукт пентозофосфатного пути, может быть новым перспективным препаратом для лечения ишемического инсульта. *Журнал национальной ассоциации по борьбе с инсультом /STROKE/.* 2016; 1 (41): 44–54. ID: 25774752.
47. Hanci V, Gille K, Karakaya K, Yurtlu S, Akrolat M, Yuce M.F, Yuce FZ., Turan I.O. Rectal dexmedetomidine in rats: evaluation of sedative and mucosal effects. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2015; 65 (1): 1–6. PMID: 25497742. DOI: 10.1016/j.bjan.2013.09.004
48. Nai G.A., de Oliveira M.C., de Oliveira Tavares G., Pereira L.F., Soares N.D., Silva P.G. Evaluation of genotoxicity induced by repetitive administration of local anaesthetics: an experimental study in rats. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2015; 65 (1): 21–26. DOI: 10.1016/j.bjan.2013.07.006.
49. Whittaker A.L, Howarth G.S. Use of spontaneous behaviour measures to assess pain in laboratory rats and mice: how are we progressing? *Appl Anim Behav Sci* 2014; 151: 1–12. DOI: 10.1016/j.applanim.2013.11.001
50. Sacerdote P, Franchi S., Panerai A.E. Non-analgesic effects of opioids: mechanisms and potential clinical relevance of opioid-induced immunodepression. *Curr Pharm Des.* 2012; 18: 6034–6042. PMID: 22747535. DOI: 10.2174/138161212803582469
51. Sauer M., Fleischmann T., Lipiski M., Arras.M. Buprenorphine via drinking water and combined oral-injection protocols for pain relief in mice. *Appl Anim Behav Sci.* 2016; 185: 103–112. DOI: 10.1016/j.applanim.2016.09.009
52. Kesici S., Kesici U., Ulusoy H., Ertukuner P, Turkmen A., Arda O. Effects of local anesthetics on wound healing. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2018; 68 (4): 375–382. DOI: 10.1016/j.bjan.2018.01.016.
53. Stanley D., Mason L.J., Mackin K.E., Srikantha Y. Translocation and dissemination of commensal bacteria in post-stroke infection. *Nat Med.* 2016; 22: 1277–1284. DOI: 10.1038/nm.4194
54. Yenari M.A., Han H.S. Neuroprotective mechanisms of hypothermia in brain ischaemia. *Nat Rev Neurosci.* 2012; 13: 267–278. PMID: 22353781. DOI: 10.1038/nrn3174
55. Lee J.S., Song D.J., Hong J.H., Kim T.S., Joo S.P. Diverse Ischemic Postconditioning Protocols Affect the infarction Size in focal ischemic Stroke. *J.Cerebrovasc. Neurosurg.* 2018; 20 (3): 159–167. DOI: 10/7461/jcen.2018.20.3.159.
56. Balkaya M.G., Trueman R.C., Boltz J., Corbett D., Jolkkonen J. Behavioral outcome measures to improve experimental stroke research. *Behav. Brain Res.* 2018; 352: 161–171. PMID: 28760700. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.07.039
57. Scherbakov N., Dirnagl U., Doeberner W. Body weight after stroke: lessons from the obesity paradox. *Stroke.* 2011; 42: 3646–3650. PMID: 21960580. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.619163
58. Venna V.R., Xu Y., Doran S.J., Patrizz A., McCullough L.D. Social interaction plays a critical role in neurogenesis and recovery after stroke. *Translational Psychiatry* 2014; 4: e351. PMID: 24473442. PMID: PMC3905235. DOI: 10.1038/tp.2013.128
59. Emik U., Unal Y., Arslan M., Demirel C.B. The effects of memantine on recovery, cognitive functions, and pain after propofol anesthesia. *Braz. J. Anesthesiol.* 2016; 66 (5): 485–491. PMID: 27591462. DOI: 10.1016/j.bjane.2015.03.002
60. Ifergane G., Boyko M., Frank D., Shiyntum H.N., Grinshpun J., Kuts R., Geva A., Kaplan Z., Zeldetz V., Cohen Y. Biological and Behavioral Patterns of Post-Stroke Depression in Rats. *Can. J. Neurol. Sci.* 2018; 45 (4): 451–461. PMID: 29880078. DOI: 10.1017/cjn.2017.302
61. Toman N.G., Grande A.W., Low W.C. Neural Repair in Stroke. *Cell Transplant.* 2019; 28 (9–10), 1123–1126. PMID: 31353939. PMID: PMC6767877. DOI: 10.1177/0963689719863784
62. Xu P, Zhang X., Liu Q., Xie Y., Shi X., Chen J., Li Y., Guo H., Sun R., Hong Y., Liu X., Xu G. Microglial TREM-1 receptor mediates neuroinflammatory injury via interaction with SYK in experimental ischemic stroke. *Cell Death Dis.* 2019; 10 (8): 555. DOI: 10.1038/s41441-019-1777-9.
63. Cardenas-Rivera A., Campero-Romero A.N., Heras-Romero Y., Penagos-Puig A., Rincon-Heredia R., Tovar-Y-Romo L.B. Early Post-stroke Activation of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 Hinders the Receptor 1-Dependent Neuroprotection Afforded by the Endogenous Ligand. *Front Cell Neurosci.* 2019; 13: 270. DOI: 10.3389/fncel.2019.00270
64. Altintas O., Ozgen Altintas M., Kumas M., Asil T. Neuroprotective effect of ischemic preconditioning via modulating the expression of cerebral miRNAs against transient cerebral ischemia in diabetic rats. *Neurol. Res.* 2016; 38 (11): 1003–1011. PMID: 27635859. DOI: 10.1080/01616412.2016.1232013
65. Xing Y., Yang S.D., Wang M.M., Dong F., Feng Y.S., Zhang F. Electroacupuncture Alleviated Neuronal Apoptosis Following Ischemic Stroke in Rats via Midkine and ERK/JNK/p38 Signaling Pathway. *J.Mol. Neurosci.* 2018; 66 (1): 26–36. DOI: 10.1007/s12031-018-1142-y.
66. Altintas O., Kumas M., Altintas M. Neuroprotective effect of ischemic preconditioning via modulating the expression of adropin and oxidative markers against transient cerebral ischemia in diabetic rats. *Peptides.* 2016; 79: 31–38. PMID: 27020247. DOI: 10.1016/j.peptides.2016.03.011
67. McDonough A., Weinstein J.R. The role microglia in ischemic preconditioning. *Glia.* 2019; 68 (3), 455–471. PMID: 31386233. DOI: 10.1002/glia.23695
68. Li M., Zou Z.-P., San M., Kao L., Chen J., Kin I.-T., Gu J.-G., Han F., Seng R., Wu J.-L., Ding I., Kin Z.-G. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-phosphate, a product of the pentose phosphate pathway, may be a new promising drug for the treatment of ischemic stroke. *Zhurnal natsionalnoj asociacii po borbe s insul'tom /STROKE/.* 2016; 1 (41): 44–54. [In Russ.]. PMID: 25774752

69. Safari A., Fazeli M., Namavar MR., Tanideh N., Jafari P., Borhani-Haghighi A. Therapeutic effects of oral dimethyl fumarate on stroke induced by middle cerebral artery occlusion: An animal experimental study. *Restor Neurol. Neurosci.* 2017; 35 (3): 265–274. PMID: 28506000. DOI: 10.3233/RNN-160670
70. Wang S., Gu X., Paudyal R., Wei L., Dix T.A., Yu S.P., Zhang X. Longitudinal MRI evaluation of neuroprotective effects of pharmacologically induced hypothermia in experimental ischemic stroke. *Magn. Reson. Imaging.* 2017; 40: 24–30. DOI: 10.1016/mri.2017.03.011.
71. Vahidinia Z., Alipour N., Atlasi M.A., Naderian Y., Beyer C., Azami Tameh F. Gonadal steroids block the calpain-1-dependent intrinsic pathway of apoptosis in an experimental rat stroke model. *Neurol. Res.* 2017; 39 (1): 54–64. PMID: 27832728. DOI: 10.1080/01616412.2016.1250459
72. Острова И.В., Голубева Н.В., Кузовлев А.Н., Голубев А.М. Прогностическая значимость и терапевтический потенциал мозгового нейротрофического фактора BDNF при повреждении головного мозга (обзор). *Общая реаниматология.* 2019; 15 (1): 70–86. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-1-70-86
73. Голубев А.М., Петрова М.В., Гречко А.В., Захарченко В.Е., Кузовлев А.Н., Ершов А.В. Молекулярные маркеры ишемического инсульта. *Общая реаниматология.* 2019; 15 (5): 11–22. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-5-11-22
74. Шевелев О.А., Петрова М.В., Саидов Ш.Х., Ходорович Н.А., Прадхан П. Механизмы нейропротекции при церебральной гипотермии (обзор). *Общая реаниматология.* 2019; 15 (6): 94–114. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-94-114
75. Zhao C.S., Li H., Wang Z., Chen G. Potential application value of xenon in stroke treatment. *Med Gas Res.* 2018; 8 (3): 116–120. PMID: 30319767. PMID: PMC6178644. DOI: 10.4103/2045-9912.241077
76. Koziakova M., Harris K., Edge C.J., Franks N.P., White I.L., Dickinson R. Noble gas neuroprotection: xenon and argon protect against hypoxic-ischaemic injury in rat hippocampus in vitro via distinct mechanisms. *Br J Anaesth.* 2019 Nov; 123 (5): 601–609. PMID: 31470983. PMID: PMC6871267. DOI: 10.1016/j.bja.2019.07.010
77. Miao Y.F., Peng T., Moody M.R., Klegerman M.E., Aronowski J., Grotta J., McPherson D.D., Kim H., Huang S.L. Delivery of xenon-containing echogenic liposomes inhibits early brain injury following subarachnoid hemorrhage. *Sci Rep.* 2018; 8 (1): 450. PMID: 29323183. PMID: PMC5765033. DOI: 10.1038/s41598-017-18914-6
78. Klegerman M.E., Moody M.R., Hurling J.R., Peng T., Huang S.L., McPherson D.D. Gas chromatography/mass spectrometry measurement of xenon in gas-loaded liposomes for neuroprotective applications. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2017; 31 (1): 1–8. PMID: 27689777. PMID: PMC5154815. DOI: 10.1002/rcm.7749
79. David H.N., Haelewyn B., Risso J.J., Colloc'h N., Abiraini J.H. Xenon is an inhibitor of tissue-plasminogen activator: adverse and beneficial effects in a rat model of thromboembolic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010; 30 (4): 718–728. PMID: 20087367. PMID: PMC2949169. DOI: 10.1038/jcbfm.2009.275
80. Hoffmann U., Sheng H., Ayata C., Warner D.S. Anesthesia in Experimental Stroke Research. *Transl Stroke Res.* 2016; 7 (5): 358–367. PMID: 27534542. PMID: PMC5016251. DOI: 10.1007/s12975-016-0491-5
81. Лалетин В.С., Быков Ю.Н. Общие анестетики как фактор эффективной нейропротекции в моделях ишемического инсульта. *Биомед Хим.* 2015 июль-август; 61 (4): 440–448. DOI: 10.18097/PBMC20156104440.
82. Liu T.J., Zhang J.C., Gao X.Z., Tan Z.B., Wang J.J., Zhang P.P., Cheng A.B., Zhang S.B. Effect of sevoflurane on the ATPase activity of hippocampal neurons in a rat model of cerebral ischemia-reperfusion injury via the cAMP-PKA signaling pathway. *J Med Sci.* 2018; 34 (1): 22–33. DOI: 10.1016/j.kjms.2017.09.004.
83. Liu J.J., Pan S.Y. Protective effects of estrogen combined with sevoflurane in an experimental model of cerebral infarction and focal cerebral ischemia-reperfusion injury. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016; 20 (9): 1839–1844. PMID: 27212178.
84. Zhang Y., Shan Z., Zhao Y., Ai Y. Sevoflurane prevents miR-181a-induced cerebral ischemia/reperfusion injury. *Chem Biol Interact.* 2019; 308: 332–338. PMID: 31170386. DOI: 10.1016/j.cbi.2019.06.008
69. Safari A., Fazeli M., Namavar MR., Tanideh N., Jafari P., Borhani-Haghighi A. Therapeutic effects of oral dimethyl fumarate on stroke induced by middle cerebral artery occlusion: An animal experimental study. *Restor Neurol. Neurosci.* 2017; 35 (3): 265–274. PMID: 28506000. DOI: 10.3233/RNN-160670
70. Wang S., Gu X., Paudyal R., Wei L., Dix T.A., Yu S.P., Zhang X. Longitudinal MRI evaluation of neuroprotective effects of pharmacologically induced hypothermia in experimental ischemic stroke. *Magn. Reson. Imaging.* 2017; 40: 24–30. DOI: 10.1016/mri.2017.03.011.
71. Vahidinia Z., Alipour N., Atlasi M.A., Naderian Y., Beyer C., Azami Tameh F. Gonadal steroids block the calpain-1-dependent intrinsic pathway of apoptosis in an experimental rat stroke model. *Neurol. Res.* 2017; 39 (1): 54–64. PMID: 27832728. DOI: 10.1080/01616412.2016.1250459
72. Ostrova I.V., Golubeva N.V., Kuzovlev A.N., Golubev A.M. Prognostic Value and Therapeutic Potential of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Brain Injuries (Review). *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology.* 2019; 15 (1): 70–86. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-1-70-86
73. Golubev A.M., Petrova M.V., Grechko A.V., Zakharchenko V.E., Kuzovlev A.N., Ershov A.V. Molecular Markers of Ischemic Stroke. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology.* 2019; 15 (5): 11–22. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-5-11-22
74. Shevelev O.A., Petrova M.V., Saidov S.K., Khodorovich N.A., Pradkhan P. Neuroprotection Mechanisms in Cerebral Hypothermia (Review). *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology.* 2019; 15 (6): 94–114. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-94-114
75. Zhao C.S., Li H., Wang Z., Chen G. Potential application value of xenon in stroke treatment. *Med Gas Res.* 2018; 8 (3): 116–120. PMID: 30319767. PMID: PMC6178644. DOI: 10.4103/2045-9912.241077
76. Koziakova M., Harris K., Edge C.J., Franks N.P., White I.L., Dickinson R. Noble gas neuroprotection: xenon and argon protect against hypoxic-ischaemic injury in rat hippocampus in vitro via distinct mechanisms. *Br J Anaesth.* 2019 Nov; 123 (5): 601–609. PMID: 31470983. PMID: PMC6871267. DOI: 10.1016/j.bja.2019.07.010
77. Miao Y.F., Peng T., Moody M.R., Klegerman M.E., Aronowski J., Grotta J., McPherson D.D., Kim H., Huang S.L. Delivery of xenon-containing echogenic liposomes inhibits early brain injury following subarachnoid hemorrhage. *Sci Rep.* 2018; 8 (1): 450. PMID: 29323183. PMID: PMC5765033. DOI: 10.1038/s41598-017-18914-6
78. Klegerman M.E., Moody M.R., Hurling J.R., Peng T., Huang S.L., McPherson D.D. Gas chromatography/mass spectrometry measurement of xenon in gas-loaded liposomes for neuroprotective applications. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2017; 31 (1): 1–8. PMID: 27689777. PMID: PMC5154815. DOI: 10.1002/rcm.7749
79. David H.N., Haelewyn B., Risso J.J., Colloc'h N., Abiraini J.H. Xenon is an inhibitor of tissue-plasminogen activator: adverse and beneficial effects in a rat model of thromboembolic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010; 30 (4): 718–728. PMID: 20087367. PMID: PMC2949169. DOI: 10.1038/jcbfm.2009.275
80. Hoffmann U., Sheng H., Ayata C., Warner D.S. Anesthesia in Experimental Stroke Research. *Transl Stroke Res.* 2016; 7 (5): 358–367. PMID: 27534542. PMID: PMC5016251. DOI: 10.1007/s12975-016-0491-5
81. Laletin V.S., Bykov Yu.N. General anesthetics as a factor in effective neuroprotection in ischemic stroke models. *Biomed Khim.* 2015 July-August; 61 (4): 440–448. [In Russ.]. DOI: 10.18097 / PBMC20156104440.
82. Liu T.J., Zhang J.C., Gao X.Z., Tan Z.B., Wang J.J., Zhang P.P., Cheng A.B., Zhang S.B. Effect of sevoflurane on the ATPase activity of hippocampal neurons in a rat model of cerebral ischemia-reperfusion injury via the cAMP-PKA signaling pathway. *J Med Sci.* 2018; 34 (1): 22–33. DOI: 10.1016/j.kjms.2017.09.004.
83. Liu J.J., Pan S.Y. Protective effects of estrogen combined with sevoflurane in an experimental model of cerebral infarction and focal cerebral ischemia-reperfusion injury. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016; 20 (9): 1839–1844. PMID: 27212178
84. Zhang Y., Shan Z., Zhao Y., Ai Y. Sevoflurane prevents miR-181a-induced cerebral ischemia/reperfusion injury. *Chem Biol Interact.* 2019; 308: 332–338. PMID: 31170386. DOI: 10.1016/j.cbi.2019.06.008

Поступила 30.07.19

Поступила 30.07.19