

УДК 616-092, 616.1, 616.8  
<https://doi.org/10.24884/1682-6655-2026-25-1-85-92>

В. В. АЛЕКСАНДРИН, А. В. ИВАНОВ, М. А. ПОПОВ,  
 А. Г. ФИЛИППОВ, А. А. КУБАТИЕВ

## Экспериментальная модель поверхностного очагового ишемического инфаркта головного мозга у крыс

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8

E-mail: [aleksandrinn-54@mail.ru](mailto:aleksandrinn-54@mail.ru)

Статья поступила в редакцию 24.10.2025 г.; принята к печати 30.01.2026 г.

### Резюме

**Введение.** Экспериментальные модели ишемии головного мозга широко используются в доклинических исследованиях, однако они недостаточно приспособлены для исследования тромбоза и тромболитизиса в микроциркуляторном русле. **Цель** – разработка нового подхода моделирования очагового инфаркта коры головного мозга в теменной зоне у крыс. **Материалы и методы.** Подход основан на аппликации хлопковой нити, пропитанной раствором хлорида железа III (24,4 %), на твердую мозговую оболочку в месте расположения пиальной артериолы. **Результаты.** Установлено, что 10-минутная аппликация вызывает сужение просвета артериолы и расширение близлежащих венул, а также значительное снижение мозгового кровотока, а спустя 24 часа в этой области образуется зона инфаркта площадью около 22 мм<sup>2</sup>. Введение тканевого активатора плазминогена (2 мг/кг, внутриаартериально) с началом аппликации подавляло окклюзию, устраняло снижение мозгового кровотока (27,5 против 3,3 п.е.,  $p < 0,001$ ) и существенно снижала площадь поражения коры мозга (0,33 против 22 мм<sup>2</sup>,  $p < 0,0001$ ). **Заключение.** Разработанный способ позволяет прижизненно регистрировать изменения микроциркуляции и может быть использован для исследования новых подходов тромболитической терапии инсульта.

**Ключевые слова:** железа хлорид, инфаркт мозга, крыса, модель ишемии

**Для цитирования:** Александрин В. В., Иванов А. В., Попов М. А., Филиппов А. Г., Кубатиев А. А. Экспериментальная модель поверхностного очагового ишемического инфаркта головного мозга у крыс. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2026;25(1):85–92. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2026-25-1-85-92>.

UDC 616-092, 616.1, 616.8  
<https://doi.org/10.24884/1682-6655-2026-25-1-85-92>

Valery V. ALEKSANDRIN, Alexander V. IVANOV,  
 Mikhail A. POPOV, Alexander G. FILIPPOV,  
 Aslan A. KUBATIEV

## Experimental Model of Superficial Focal Ischemic Cerebral Infarction in Rats

Institute of General Pathology and Pathophysiology

8, Baltiyskaya str., Moscow, Russia, 125315

E-mail: [aleksandrinn-54@mail.ru](mailto:aleksandrinn-54@mail.ru)

Received 24.10.25; accepted 30.01.26

### Summary

**Introduction.** Experimental models of cerebral ischemia are widely used in preclinical studies, but they are often insufficiently adapted for studying thrombosis and thrombolysis in the microcirculation. **Objective.** To develop a new approach for modeling focal infarction of the cerebral cortex in the parietal zone in rats. **Materials and Methods.** The approach is based on the application of a cotton thread soaked in a 24.4% iron (III) chloride to the dura mater at the location of the pial arteriole. **Results.** A 10-minute application was found to cause narrowing of the arteriole lumen and dilation of nearby venules, as well as a significant decrease in cerebral blood flow. After 24 hours, an infarction zone of approximately 22 mm<sup>2</sup> was formed in this area. Administration of tissue plasminogen activator (2 mg/kg, intra-arterially) at the beginning of the application suppressed occlusion, eliminated the decrease in cerebral blood flow (27.5 vs 3.3 PU,  $p < 0.001$ ), and significantly decreased the area of cerebral cortex damage (0.33 vs 22 mm<sup>2</sup>,  $p < 0.0001$ ). **Conclusion.** The developed method allows for intravital recording of microcirculation changes and it can be used to explore new approaches to thrombolytic therapy for stroke.

**Keywords:** iron chloride, cerebral infarction, rat, ischemia model

**For citation:** Aleksandrinn V. V., Ivanov A. V., Popov M. A., Filippov A. G., Kubatiev A. A. Experimental Model of Superficial Focal Ischemic Cerebral Infarction in Rats. Regional Blood Circulation and Microcirculation. 2026;25(1):85–92. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2026-25-1-85-92>.

## Введение

Ишемический инсульт (ИИ) является одной из ведущих причин смертности и инвалидизации в РФ и мире [1–3]. За последние десятилетия наблюдается значительный рост заболеваемости в развивающихся странах и ее снижение в развитых странах, что обостряет проблемы, связанные со все возрастающей инвалидизацией от ИИ. По прогнозам в ближайшем будущем будет наблюдаться в целом, как рост ИИ, так и экономический ущерб от него [4]. Наиболее часто встречается в клинической практике встречаются очаговые ИИ, составляющие ~6–12 % от объема полушария мозга, появляющиеся в большинстве случаев вследствие разрыва атеросклеротической бляшки (атеротромботический подтип), формирования тромба в сердце (кардиоэмболический подтип), микроангиопатии (лакунарный подтип) [5]. Для лечения острого ИИ при отсутствии противопоказаний в первые 3–4,5 часа наиболее часто применяется внутривенное введение фибринолитических препаратов (алтеплаза, тенектеплаза, стафилокиназа) для восстановления нормального кровотока в зоне ишемической полутени (пенумбры). Несмотря на достижения последних лет, эффективность лечения инсульта остается довольно низкой: лишь около 15 % пациентов с ИИ проводится тромболитическая терапия, и только у 30–50 % из них наблюдается реканализация очага инсульта [6], притом даже успешная реканализация артерии не всегда приводит к восстановлению мозгового кровотока и благоприятному исходу ИИ [7]. Поэтому весьма актуальной задачей является использование адекватных экспериментальных моделей ИИ на животных для исследования и тестирования новых тромболитических препаратов.

Наиболее распространенные способы создания ИИ у грызунов основаны на механической окклюзии или тромбозе среднемозговой артерии (СМА), т. к. в клинической практике ИИ в ее бассейне наблюдается наиболее часто [8, 9]. Так, около половины всех экспериментальных исследований ИИ в мире (40 % из более чем 2600 экспериментов в мире на 2019 год) проводятся на моделях временной (60–120 мин) механической окклюзии СМА с последующей реперфузией [10]. Однако недостатками таких моделей является, во-первых, несоответствие профиля восстановления мозгового кровотока (МК) клиническим условиям, в которых реперфузия на фоне ИИ происходит постепенно. Во-вторых, на таких моделях формируется небольшая зона пенумбры, что ограничивает возможности исследования подходов лечения ИИ. Наконец, перекрытие СМА сразу вызывает обширный подкорковый инфаркт, распространение которого на неокортекс начинается только через несколько суток, что редко встречается в клинике. Наконец, ввиду того, что тромб в данном случае не образуется, механическая окклюзия не используется для исследования тромболитического подтипа. По той же причине электрокоагуляция СМА или введение/апликация эндотелина-1 не используются для исследования тромболитических подтипов. Модель фототромботического инсульта основана на ис-

пользовании фотоактивного красителя (бенгальский розовый и эритрин В) и используется для создания фокальных корковых инсультов [11, 12]. Ввиду диссеминированного характера тромбоза для этой модели не характерно формирование пенумбры. Также механизм тромбообразования носит нефизиологический характер и не связан с естественными факторами активации тромбоцитов и внутреннего пути коагуляции, которые могут оказывать важное влияние на тромболитический процесс [13]. Наконец, фототромбоз вызывает разрушение гематоэнцефалического барьера и развитие вазогенного отека, в то время как в патогенезе ИИ у человека ведущую роль отдают цитотоксическому (внутриклеточному) отеку [14].

Для исследования тромболитических подтипов наиболее подходят т.н. эмболические модели, в которых проводят введение в просвет сосуда тромба, сгенерированного *ex vivo* или применяют агенты (тромбин, коллаген, хлорид железа III –  $FeCl_3$ ) вызывающий образование тромба *in situ*. Ввиду своего характера этот способ может быть максимально приближен к клиническому инсульту. Профиль МК при реперфузии, достигающейся введением тромболитических препаратов, на таких моделях обычно плавный, что дает возможность формирования более выраженной зоны пенумбры и, таким образом, более соответствует клинической картине реваскуляризации при ИИ и минимизирует воздействие реперфузионных механизмов повреждения мозга, в отличие от механических моделей временной окклюзии СМА [15].

$FeCl_3$ , в отличие от таких индукторов тромбообразования как тромбин, коллаген и гомологичные тромбы, не требует парентерального введения, действует локально и быстро. Впервые же этот подход был применен на грызунах в 1990 году [16]. С его помощью были разработаны как модели проксимальной, так и дистальной окклюзии СМА [17–21]. Апликация  $FeCl_3$  в различных концентрациях (до 50 %) не вызывала достоверных изменений активности тканевого активатора пламиногена, что важно для фибринолитических исследований [22].

В развитии клинической картины ИИ не редки случаи, когда тромб, сформированный в основном стволе СМА самопроизвольно или вследствие тромбозотомии/тромболитического подтипа распадается на более мелкие фрагменты, которые становятся причиной самостоятельных очагов эмболии в более мелких сосудах, в том числе пиальных артериолах, из-за которых не достигается полноценной реперфузии, несмотря на реканализацию СМА [23]. По нашим данным в литературе еще не было представлено модели фокального инфаркта мозга, ограниченного тромбозом одной артериолы СМА, который бы затрагивал только кору и давал возможность прижизненного наблюдения тромбообразования и изменений микроциркуляции ее поверхностной сосудистой сети. В настоящей работе мы разработали новый подход, который заключается в локальной апликации раствора  $FeCl_3$  непосредственно на поверхность твердой мозговой оболочки над пиальной артериолой теменной области коры головного мозга.

**Материалы и методы исследования**

**Животные и схема эксперимента.** В экспериментах использовались самцы беспородных белых крыс (300–350 г). Крысы содержались в условиях контролируемой температуры (19–25 °С) и влажности (30–70 %) в клетках Macrolin с неограниченным доступом к пище и воде. Свето-темновой режим составлял 12/12 часов (с 7:00 до 19:00). Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/ЕС о защите животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 г., Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (ETS № 123, Страсбург, 18 марта 1986 г., с изменением от 15.06.2006 г.). Исследование было одобрено Этическим комитетом Института общей патологии и патофизиологии (протоколы № 4 от 05.08.2025 и № 5 от 07.10.2025 г.).

Животных случайным образом разделили на три группы. В первой группе в бассейне одной из ветвей средней мозговой артерии в теменной области неокортекса осуществляли тромбоз артериолы путем наложением (аппликацией) нити, насыщенной раствором  $\text{FeCl}_3$  на 10 мин. Непосредственно перед аппликацией животным этой группы болюсно в/а вводили 0,5 мл 0,9 %  $\text{NaCl}$ , а после аппликации инфузировали еще 0,5 мл 0,9 %  $\text{NaCl}$  в течение 30 мин. Во второй группе непосредственно перед процедурой тромбоза болюсно в/а вводили 0,5 мл тромболитического препарата тканевой активатор плазминогена человека (t-PA)  $\geq 95$  % (Sigma-Aldrich, США) из расчета 2 мг действующего вещества на 1 кг веса животного. Необходимое количество препарата растворяли в 1 мл 0,9 %  $\text{NaCl}$  непосредственно перед использованием. Остальные 0,5 мл препарата инфузировали после аппликации в течение 30 мин. В третьей, контрольной, группе осуществляли наложение на поверхность мозга нити, смоченной в 0,9 %  $\text{NaCl}$ . Непосредственно перед аппликацией животным этой группы болюсно в/а вводили 0,5 мл 0,9 %  $\text{NaCl}$ , а после аппликации инфузировали еще 0,5 мл 0,9 %  $\text{NaCl}$  в течение 30 мин. На рис. 1 представлена схема эксперимента.

В предварительных экспериментах объем групп 1 и 2 составил 5 крыс, а объем группы 3 – 3 крысы. Для определения конечного объема выборки мы воспользовались соответствующим калькулятором (<https://clincalc.com/Stats/SampleSize.aspx>), используя в качестве критерия наступление визуальной окклюзии артериолы в месте аппликации  $\text{FeCl}_3$  или  $\text{NaCl}$ . При заданных параметрах анализа ( $\alpha=0,05$ , power 90 %) и условиях (вероятность окклюзии в группах 1, 2, 3 – 99, 33 и 1 % соответственно) минимальное количество животных составило 9 для групп 1 и 2, и 3 животных для группы 3. Поэтому размер экспериментальных групп составил по 9 крыс, а контрольной группы был увеличен до 5. Post-hoc анализ полученных данных ( $\alpha=0,05$ , power 90 %) показал 100 % при сопоставлении групп 1 и 2 по уровню МК и площади инфаркта.

**Моделирование ишемии мозга.** Животных наркотизировали хлоралгидратом (400 мг/кг, в/б). Достаточный уровень анестезии определяли по отсутствию реакции вибрисс на болевой стимул. Ректальная

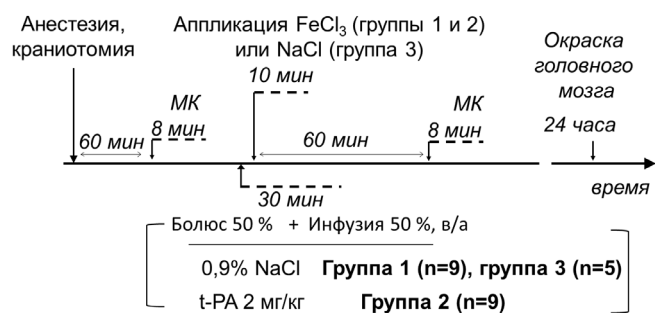
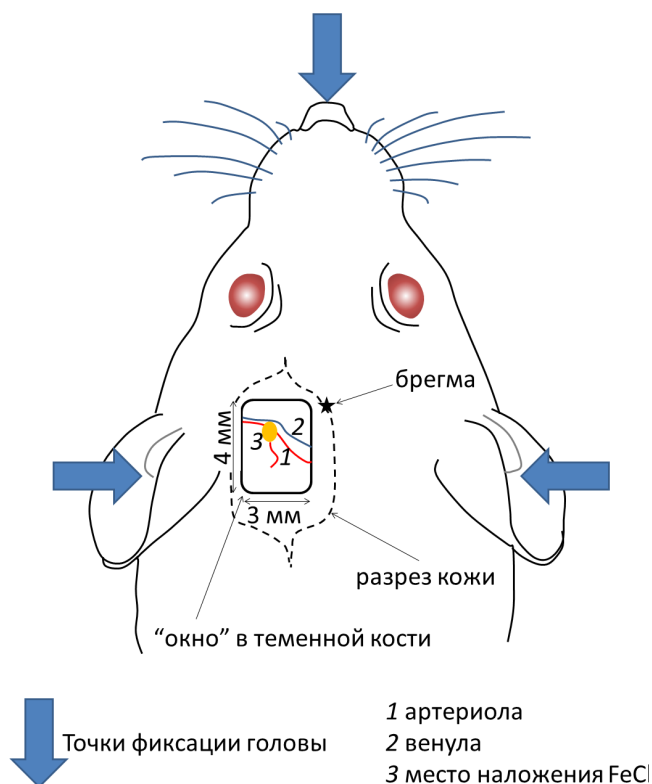


Рис. 1. Схема моделирования ишемии мозга

Fig. 1. Scheme of cerebral ischemia modeling

температура животного поддерживалась на уровне 36,7 °С утепляющими матами [24]. В хвостовую артерию вставляли катетер для введения физиологического раствора или t-PA. Крысу помещали в положение лежа на животе. Голову животного прочно закрепляли в стереотаксической рамке и обнажали череп посредством срединного надреза. С помощью стоматологической фрезы в пределах левой теменной кости (каудально от брегмы) проделывали «окно» размером 3 на 4 мм с сохранением твердой мозговой оболочки (рис. 2). Регистрацию локального мозгового кровотока осуществляли лазерным доплеровским монитором ЛАКК-02 (НПП «ЛАЗМА», Россия) в красном канале лазерного излучения (длина волны 0,63 мкм) в условиях температуры окружающей среды 20–21 °С через 60 мин после окончания хирургических процедур. Микроманипулятором подводили датчик (диаметр 0,8 мм) до касания твердой мозговой

Рис. 2. Операционное поле (схема): стрелка указывает место нанесения нити  $\text{FeCl}_3$ ; \* указывает точки крепления на голове крысыFig. 2. Surgical field (schematic): the arrows indicate the fixation points of the rat's head; \* – bregma; 1 – arteriole; 2 – venule; 3 – location of  $\text{FeCl}_3$ -soaked thread application

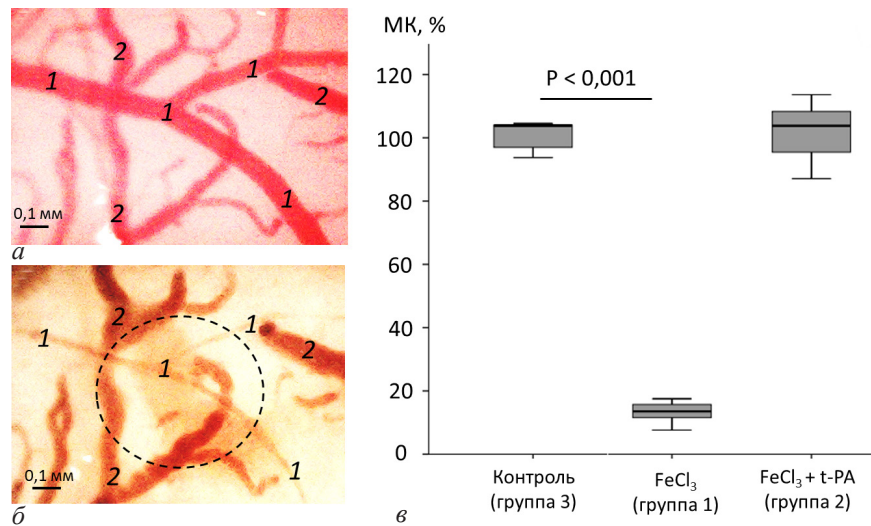


Рис. 3. Фотографии поверхности мозга: *a* – участок коры головного мозга до нанесения  $\text{FeCl}_3$ ; *б* – после нанесения  $\text{FeCl}_3$  (зона выделена пунктиром); 1 – артериола; 2 – венула; *в* – уровень МК в зоне моделирования окклюзии через 1 час после нанесения  $\text{FeCl}_3$

Fig. 3. Photos of the brain surface: *a* – cerebral cortex area before  $\text{FeCl}_3$  application; *б* – after  $\text{FeCl}_3$  application (area highlighted by a dotted line); 1 – arteriole; 2 – venule; *в* – cerebral blood flow level in the simulated occlusion zone 1 hour after  $\text{FeCl}_3$  application

оболочки. Величину кровотока и амплитудные показатели колебаний оценивали в перфузионных единицах (п. е.). После регистрации фонового кровотока крысу помещали под объектив микроскопа. Увеличение составляло порядка 30 крат. Визуально выбирали область бифуркации материнской артериолы и проводили видеорегистрацию. Для моделирования очагового инфаркта накладывали на нее хлопковую нить (диаметром 0,35 мм), пропитанную раствором  $\text{FeCl}_3$  (24,4%), содержащей 10 об. % глицерола (чтобы замедлить процесс высыхания нити во время операции). В контрольных опытах нить пропитывали физиологическим раствором и глицеролом. Масса нити с раствором составляла  $3,5 \pm 0,2$  мг. Время экспозиции составляло 10 мин. Затем нить убирали и проводили повторную видеорегистрацию и измерение локального кровотока.

**Определение площади инфаркта мозга.** Через 24 часа после операции крыса была эвтанирована введением двойной дозы наркоза как описано выше. Головной мозг был аккуратно извлечен и помещен в раствор питательной среды RPMI Medium 1640 (1X) (Gibco, Великобритания), содержащей 3% трифенилтетразолия хлорида или ТТС (РМ-Инжиниринг, Россия) на 45 мин при  $37^\circ\text{C}$ . После образец фиксировали в формалине 24 часа. Фотографирование дорсальной поверхности и срезов мозга проводили с использованием цифровой камеры Sony Nex-5N (Sony, Япония), оснащенным объективом EX Macro 105 mm (Sigma, Япония) при относительном отверстии 1:16. Площадь инфаркта определяли как проекцию поверхности мозга на дорсальную плоскость. Обработку изображений осуществляли с использованием программы ImageJ 1.54p (Wayne Rasband (NIH), США).

**Обработка результатов.** Количественные данные обрабатывали в Excel 2010 (Microsoft, США) и SPSS Statistics 22 (IBM Corp., США). Нормальность распределения показателей выявляли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Данные представляли в виде медиана (1-й квартиль; 3-й квартиль).

Достоверность полученных результатов определяли с помощью критерия Манна – Уитни при уровне достоверности  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

**Изменения микроциркуляции и МК при аппликации  $\text{FeCl}_3$ .** На рис. 3 представлены фотографии поверхности мозга до (*a*) и после (*б*) аппликации нити с  $\text{FeCl}_3$  в 1 группе крыс на которых хорошо различимы микрососуды (артериола и окружающие венулы). В исходном состоянии наблюдалась полнокровная материнская артериола с ответвлениями (1), а также полнокровные венулы (2). Через 10 мин после аппликации наблюдалась констрикция артериол и набухание венул. В группах 2 и 3 после наложения нити с  $\text{FeCl}_3$  и 0,9% NaCl соответственно визуальных изменений не наблюдалось (данные не приводятся).

Окклюзия артериолы была подтверждена падением уровня МК в месте аппликации  $\text{FeCl}_3$  с 24 (22; 25) до 3,3 (2,1; 4,0) п. е. за 60 мин,  $p < 0,001$ , что соответствовало 13,6 (10,4; 15,9)% от исходного уровня (рис. 3, в). Во 2-й и 3-й группах уровень МК оставался на исходном уровне.

**Аппликация  $\text{FeCl}_3$  вызывает локальный инфаркт мозга.** Как показано на рис. 4, *a* после аппликации  $\text{FeCl}_3$  в этом месте спустя сутки образовывалась зона поверхностного инфаркта. Его площадь составляла 22 (20,9; 28)  $\text{mm}^2$  (минимальная – 14,8, максимальная – 48,3). Глубина его проникновения в кору составляла до 0,6–0,75 мм. В контрольной группе область инфаркта не наблюдалась (данные не показаны). Спустя сутки после операции у крыс не наблюдалось пореза конечностей и нарушений координации передвижения по клетке в исследуемых группах.

**Введение t-PA аттенюирует действие  $\text{FeCl}_3$ .** В ходе предварительных экспериментов мы изучили влияние разных доз t-PA (1, 2 и 10 мг/кг) на выживаемость и способность к тромболизису на данной модели. При ее введении в высокой дозе окклюзии артериолы при аппликации  $\text{FeCl}_3$  не происходило,

однако наблюдалась гибель животных на следующие сутки. При дозе 1 мг/кг ее тромболитический эффект был весьма нестабильный. На фоне инфузии t-PA в дозе 2 мг/кг в 6 случаях из 9 не наблюдалось визуальной окклюзии артериолы в месте аппликации  $\text{FeCl}_3$  во время наблюдения *in situ*, а в трех случаях наблюдался тромбоз артериолы, который проходил в течение 30 мин после аппликации  $\text{FeCl}_3$ . Уровень МК за 60 мин (27,5 (22,8; 32,5) п. е.) практически не отличался от исходного (26,5 (24,8; 32,3) п. е.) как показано на рис. 3, в, что свидетельствует о тромботическом характере окклюзии. На фоне введения фибринолитика площадь инфаркта мозга была значительно меньше, и в 5 случаях из 9 визуальна зона инфаркта не определялась. После введения t-PA площадь инфаркта у крыс составляла 0,33 (0,0; 2,91) мм<sup>2</sup> (от 0 до 6,2 мм<sup>2</sup>), что было значительно меньше, чем в группе ишемии ( $p=2,2 \cdot 10^{-5}$ ) (рис. 4, б).

В настоящем исследовании был разработан новый подход моделирования фокального инсульта у крыс, основанный на Fe-индуцированной эмболии артериолы в бассейне СМА с возможностью прижизненного наблюдения микроциркуляции. Кровоснабжение теменной области неокортекса крысы осуществляется одной из ветвей СМА. Эта область хорошо изучена и в ней легко визуализируются артериолы с бифуркациями [25], что делает ее удобной для наблюдения. Введение фибринолитика (t-PA) предотвращало окклюзию артериолы и значительно снижало повреждение мозга, вызванное аппликацией  $\text{FeCl}_3$ , что подтверждает тромботическую природу окклюзии.

Хотя в состоянии бодрствования нормальная температура тела крыс составляет 37–38 °С, в состоянии наркоза ректальная температура в диапазоне от 36,5–37,5 °С считается нормальной [25], поэтому в настоящем исследовании этот показатель поддерживался на уровне 36,7 °С.

На разработанных моделях экспериментального ИИ у грызунов было выявлено большое число (>1000) фармакологических агентов, которые обладали бы нейропротективными эффектами. Однако отсутствие клинически доказанных подходов нейропротекции к настоящему времени говорит о низкой трансляционной эффективности экспериментальных моделей, что является важнейшей проблемой в данной области [26]. Другой важной клинической проблемой лечения острого ИИ является высокая устойчивость артериальных тромбов к действию фибринолитиков, решение которой также требует подбора адекватных экспериментальных моделей.

Для моделирования инсульта с возможностью плавной реканализации у грызунов были разработано довольно много эмболических моделей. Так, введение гомологичного тромба, коллагена или тромбина в проксимальную часть СМА дает зону обширного инфаркта, аналогичную механической окклюзии, однако особенностями данных подходов являются мультифокальный характер ишемии со значительной вариабельностью объема инфаркта, спонтанная реканализация, высокий риск геморрагии и смертность (до 30 %) [8]. Микроинъекция тромбина в дистальную часть СМА позволяет повысить вос-

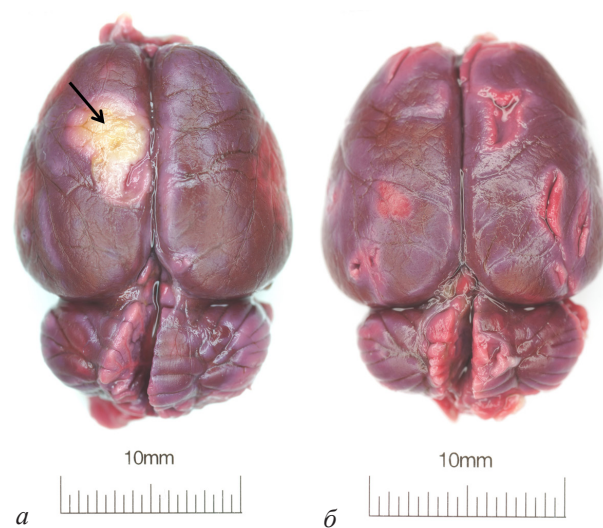


Рис. 4. Целый мозг крысы после аппликации  $\text{FeCl}_3$  без введения и на фоне введения t-PA соответственно с последующей окраской TTC. Стрелкой отмечена зона инфаркта

Fig. 4. Whole rat brain after  $\text{FeCl}_3$  application without and with t-PA administration, followed by TTC staining. The arrow indicates the infarction zone

производительность результатов, снизить смертность и иметь возможность визуального контроля полноты окклюзии, реканализации [8]. Но эти модели также имеют повышенный риск спонтанной реканализации и/или формирования микротромбов в более мелких сосудах. Также тромбин-индуцированные тромбы менее резистентны к лизису, чем те, что наблюдаются в клинике [27], что имеет большое значение при оценке трансляционной эффективности модели.

В основе тромбогенного действия  $\text{Fe}^{3+}$  лежат механизмы, ведущие к формированию проагрегантных свойств эндотелия, а также индукция изменений на поверхности эритроцитов, облегчающих их временную адгезию на поверхности эндотелия с последующим формированием в этих местах эритроцитарных фрагментов (микрочастиц), которые, как полагают, становятся триггерными точками для адгезии, агрегации и активации тромбоцитов [28]. Хотя молекулярные механизмы индукции тромбообразования под действием  $\text{FeCl}_3$  не физиологичны и исследованы еще далеко не в полной мере, также как и его побочные эффекты, в многочисленных исследованиях было отмечено, что получающийся тромб довольно устойчив к действию фибринолитиков на основе тканевого активатора плазминогена, антикоагулянтам и антитромбоцитарным агентам [17, 18, 21, 29], особенно при его отсроченном введении (более 1 часа после тромбообразования) [20]. Отек мозга для этих моделей не был характерен, несмотря на нарушение проницаемости ГЭБ. Гистологический анализ показал, что фибрин, наряду с тромбоцитами, являются основными компонентами Fe-индуцированных тромбов [19, 22]. Все это указывает на то, что Fe-индуцированные тромбы имеют более схожие черты с клиническими, в сравнении с другими эмболическими моделями.

Аппликацией носителя  $\text{FeCl}_3$  на поверхность сонной артерии осуществляли проксимальную окклюзию СМА, что давало картину обширного

мультифокального инфаркта [17, 20, 29], что редко наблюдается в клинике. Нанесение фильтра с  $\text{FeCl}_3$  непосредственно на поверхность твердой мозговой оболочки над СМА в области, проксимальнее ее бифуркации давало возможность визуализировать тромбоз прижизненно и делало модель более воспроизводимой и приближенной к морфологии клинического инсульта [19, 21, 29], однако необходимость иссечения височной мышцы приводило к нарушению жевания и животные в постоперационный период дней сильно теряли в весе [19], что является негативным фактором при использовании данной модели.

В отличие от вышеперечисленных, настоящий подход дает поверхностный фокальный инсульт небольшой площади со значительно меньшим проникновением в кору. Поэтому для оценки инфаркта мы использовали определение площади, а не объема поражения мозга, что значительно проще, т. к. не требует разрезания мозга. Индивидуальные и межлинейные особенности строения сосудистой сети могут вносить основной вклад в вариабельность этого показателя. С одной стороны, развитие коллатерального кровотока обеспечивает перфузию ишемизированного участка, но, с другой стороны, т. к. на стадии аппликации  $\text{FeCl}_3$  тромбообразование распространяется и в дистальном направлении, то коллатерали могут принимать участие в этом процессе.

Для удобства наблюдения за пияльными сосудами краниотомия проводилась в пределах теменной кости между брегмой и лямбдой. Координаты коркового представительства конечностей крысы находятся роstralно от брегмы под лобной костью. Поэтому некроз неокортекса не вызывал видимых двигательных нарушений у животных. Мы использовали краниотомию теменной области в том числе еще и потому, что она не сопряжена с осложнениями, характерными при краниотомии височной области, которую производят на моделях дистальной окклюзии СМА.

На стабильность и скорость тромбообразования влияют множество факторов, таких как концентрация  $\text{FeCl}_3$ , площадь его нанесения, тип анестезии, тип сосуда, техника операции, линия животного и др. В различных исследованиях содержание  $\text{FeCl}_3$  варьировалось от 2,5 до 50 %, но пока известно мало о влиянии этого параметра на скорость, стабильность тромбообразования, его структуру и состав. В случае дистальной окклюзии СМА у мышей объем инфаркта при использовании 20–30 %  $\text{FeCl}_3$  был на одном уровне [19], поэтому нами была выбрана концентрация соли в данном диапазоне. В предварительных экспериментах мы тестировали различную длительность аппликации  $\text{FeCl}_3$  – от 3 до 10 мин, но только в последнем случае наблюдалась стабильная окклюзия (данные не опубликованы). При тромбозе более крупных сосудов время аппликации, как правило, меньше, что может быть обусловлено тем, что со снижением диаметра сосуда снижается и площадь аппликации, и, следовательно, требуется большее время, чтобы создать критическую концентрацию  $\text{Fe}^{3+}$  в сосуде.

### Заключение

Разработанный в настоящем исследовании подход требует краниотомии, что, с одной стороны, осложняет технику операции и наносит дополнительную травму животному. Однако это, во-первых, предотвращает возрастание внутричерепного давления, вызываемого отеком мозга, что является наиболее серьезным побочным эффектом при моделировании обширных ИИ и часто приводит к смерти. Во-вторых, дает возможность прижизненной визуализации микроциркуляции и тромбообразования, чего лишены модели без краниотомии. Трепанация теменной кости, в отличие от моделей дистальной окклюзии СМА, не осложняется нарушением жевания. Таким образом, данный подход может быть новым инструментом для исследования подходов лечения острого ИИ.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare that they have no conflict of interest.

### Источник финансирования / Financing

Работа выполнена в рамках темы государственного задания № FGFU-2025-0004 «Молекулярно-клеточные и системные механизмы нарушений функций головного мозга при нейродегенеративных заболеваниях и его старении: развитие технологий диагностики, лечения и профилактики». / The work was carried out within the framework of the state assignment № FGFU-2025-0004 «Molecular-cellular and systemic mechanisms of brain dysfunction in neurodegenerative diseases and its aging: development of diagnostic, treatment and prevention technologies».

### Соответствие принципам этики / Compliance with Ethical Standards

Проведенное исследование соответствует Директиве ЕС 2010/63/ЕС о защите животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 г., Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (ETS № 123, Страсбург, 18 марта 1986 г., с изменением от 15.06.2006 г.). Исследование было одобрено независимым этическим комитетом при ФГБНУ «НИИОПП», протоколы № 4 от 05.08.2025 и № 5 от 7.10.2025 г. / The study complies with EU Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes of September 22, 2010, and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123, Strasbourg, March 18, 1986, as amended on June 15, 2006). The study was approved by the Independent Ethics Committee of the Institute of General Pathology and Pathophysiology (protocols № 4 of August 05, 2025 and № 5 of October 07, 2025)..

### Литература / References

1. Mosconi MG, Paciaroni M. Treatments in Ischemic Stroke: Current and Future. *Eur Neurol.* 2022;85(5):349–366. Doi: 10.1159/000525822.
2. Ковтун Н. А., Исаева Т. В., Савельева М. И., Бояринцев В. В. Цереброваскулярные заболевания: инсульт – диа-

- гностика, лечение, профилактика // *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2025. Т. 1. С. 80–84. [Kovtun NA, Isaeva TV, Savel'yeva MI, Boyarintsev VV. Cerebrovascular pathology: stroke – diagnostics, treatment, prevention. *Kremlevskaya medicina. Klinichesky vestnik*. 2025;1:80–84. (In Russ.)]. Doi: 10.48612/cgma/1bu1-kg67-fjrv.
3. Игнатьева В. И., Вознюк И. А., Шамалов Н. А. и др. Социально-экономическое бремя инсульта в Российской Федерации // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2023. Т. 123. С. 5–15. [Ignatyeva VI, Voznyuk IA, Shamalov NA, et al. Social and economic burden of stroke in Russian Federation. *S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2023;123(8–2):5–15. (In Russ.)]. Doi: 10.17116/jnevro20231230825.
4. Wafa HA, Wolfe CDA, Emmett E, et al. Burden of Stroke in Europe: Thirty-Year Projections of Incidence, Prevalence, Deaths, and Disability-Adjusted Life Years. *Stroke*. 2020;51(8):2418–2427. Doi: 10.1161/STROKEAHA.120.029606.
5. O'Collins VE, Donnan GA, Macleod MR, Howells DW. Chapter 20 – Animal models of ischemic stroke versus clinical stroke: comparison of infarct size, cause, location, study design, and efficacy of experimental therapies. Ed(s): P. Michael Conn, *Animal Models for the Study of Human Disease (Second Edition)*, Academic Press; 2017. P. 481–523. ISBN 9780128094686. Doi: 10.1016/B978-0-12-809468-6.00020-6.
6. Bhaskar S, Stanwell P, Cordato D, et al. Reperfusion therapy in acute ischemic stroke: dawn of a new era? *BMC Neurol*. 2018;18(1):8. Doi: 10.1186/s12883-017-1007-y.
7. Sun Y, Jou E, Nguyen TN, et al. Predictors of futile recanalization after endovascular treatment in acute ischemic stroke: a multi-center study. *Front Neurosci*. 2023;17:1279366. Doi: 10.3389/fnins.2023.1279366.
8. Macrae IM. Preclinical stroke research-advantages and disadvantages of the most common rodent models of focal ischaemia. *Br J Pharmacol*. 2011;164(4):1062–78. Doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01398.x.
9. Голубев А. М. Модели ишемического инсульта (обзор) // *Общая реаниматология*. 2020. Т. 16, № 1. С. 59–72. [Golubev AM. Models of Ischemic Stroke (Review). *General Reanimatology*. 2020;16(1):59–72. (In Russ.)]. Doi: 10.15360/1813-9779-2020-1-59-72.
10. Li Y, Zhang J. Animal models of stroke. *Animal Model Exp Med*. 2021;4(3):204–219. Doi: 10.1002/ame2.12179.
11. Острова И. В., Бабкина А. С., Любомудров М. А. и др. Применение фотохимического тромбоза для моделирования ишемического инсульта (обзор) // *Общая реаниматология*. 2023. Т. 19, № 3. С. 54–65. [Ostrova IV, Babkina AS, Lyubomudrov MA, et al. Photochemically Induced Thrombosis as a Model of Ischemic Stroke. *General Reanimatology*. 2023;19(3):54–65. (In Russ.)]. Doi: 10.15360/1813-9779-2023-3-54-65.
12. Осиков М. В., Шеломенцев А. В., Шишкова Ю. С. Современные подходы для моделирования фокального ишемического инсульта // *Вестник НовГУ*. 2024. Т. 2, № 136. С. 209–220. [Osikov MV, Shelomentsev AV, Shishkova YuS. Modern approaches for modeling focal ischemic stroke. *Vestnik NovSU*. 2024;2(136):209–220. (In Russ.)]. Doi: 10.34680/2076-8052.2024.2(136).209-220.
13. Kleinschnitz C, Braeuninger S, Pham M, et al. Blocking of platelets or intrinsic coagulation pathway-driven thrombosis does not prevent cerebral infarctions induced by photothrombosis. *Stroke*. 2008;39(4):1262–8. Doi: 10.1161/STROKEAHA.107.496448.
14. Carmichael ST. Rodent models of focal stroke: size, mechanism, and purpose. *NeuroRx*. 2005;2(3):396–409. Doi: 10.1602/neurorx.2.3.396.
15. Hossmann KA. The two pathophysiologicals of focal brain ischemia: implications for translational stroke research. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32(7):1310–6. Doi: 10.1038/jcbfm.2011.186.
16. Kurz KD, Main BW, Sandusky GE. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride. *Thromb Res*. 1990;60(4):269–80. Doi: 10.1016/0049-3848(90)90106-m.
17. Ye Y, Xin XY, Zhang HL, et al. A modified mouse model of haemorrhagic transformation associated with tPA administration after thromboembolic stroke. *Heliyon*. 2023;9(1):e13102. Doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e13102.
18. Li W, Nieman M, Sen Gupta A. Ferric Chloride-induced Murine Thrombosis Models. *J Vis Exp*. 2016;(115):54479. Doi: 10.3791/54479.
19. Karatas H, Erdener SE, Gursoy-Ozdemir Y, et al. Thrombotic distal middle cerebral artery occlusion produced by topical FeCl<sub>3</sub> application: a novel model suitable for intravital microscopy and thrombolysis studies. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2011;31(6):1452–60. Doi: 10.1038/jcbfm.2011.8.
20. Kwon I, Hong SY, Kim YD, et al. Thrombolytic effects of the snake venom disintegrin saxatilin determined by novel assessment methods: a FeCl<sub>3</sub>-induced thrombosis model in mice. *PLoS One*. 2013;8(11):e81165. Doi: 10.1371/journal.pone.0081165.
21. van Moorsel MVA, de Maat S, Vercruyssen K, et al. VWF-targeted thrombolysis to overcome rh-tPA resistance in experimental murine ischemic stroke models. *Blood*. 2022;140(26):2844–2848. Doi: 10.1182/blood.2022016342.
22. Shim Y, Kwon I, Park Y, et al. Characterization of ferric chloride-induced arterial thrombosis model of mice and the role of red blood cells in thrombosis acceleration. *Yonsei Med J*. 2021;62(11):1032–1041. Doi: 10.3349/ymj.2021.62.11.1032.
23. Yogendrakumar V, Vandelanotte S, Mistry EA, et al. Emerging adjuvant thrombolytic therapies for acute ischemic stroke reperfusion. *Stroke*. 2024;55(10):2536–2546. Doi: 10.1161/STROKEAHA.124.045755.
24. Рыжков И. А., Голубова Н. В., Лапин К. Н. и др. Параметры микроциркуляции в коже как диагностические маркеры нарушения центрального и церебрального кровообращения при геморрагическом шоке. *Общая реаниматология*. 2025;21(3):11–25. Doi: 10.15360/1813-9779-2025-3-2559. [Ryzhkov IA, Golubova NV, Lapin KN, et al. Skin microcirculatory parameters as diagnostic markers of central and cerebral circulatory disorders in hemorrhagic shock. *General Reanimatology*. 2025;21(3):11–25. (In Russ.)]. Doi: 10.15360/1813-9779-2025-3-2559.
25. Mastantuono T, Starita N, Battiloro L, et al. Laser speckle imaging of rat pial microvasculature during hypoperfusion-reperfusion damage. *Front Cell Neurosci*. 2017;11:298. Doi: fncel.2017.00298.
26. Trotman-Lucas M, Gibson CL. A review of experimental models of focal cerebral ischemia focusing on the middle cerebral artery occlusion model. *F1000Res*. 2021;10:242. Doi: 10.12688/f1000research.51752.2.
27. García-Yébenes I, Sobrado M, Zarruk JG, et al. A mouse model of hemorrhagic transformation by delayed tissue plasminogen activator administration after in situ thromboembolic stroke. *Stroke*. 2011;42(1):196–203. Doi: 10.1161/STROKEAHA.110.600452.
28. Ciciliano JC, Sakurai Y, Myers DR, et al. Resolving the multifaceted mechanisms of the ferric chloride thrombosis model using an interdisciplinary microfluidic approach. *Blood*. 2015;126(6):817–24. Doi: 10.1182/blood-2015-02-628594.
29. Martinez de Lizarrondo S, Gakuba C, Herbig BA, et al. Potent thrombolytic effect of n-acetylcysteine on arterial thrombi. *Circulation*. 2017;136(7):646–660. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027290.

### Информация об авторах

**Александрин Валерий Васильевич** – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции агрегатного состояния крови, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия, e-mail: aleksandrin-54@mail.ru.

**Иванов Александр Владимирович** – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции агрегатного состояния крови, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия, e-mail: Ivanov\_av82@mail.ru.

**Попов Михаил Александрович** – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия, e-mail: popovcardio88@mail.ru.

**Филиппов Александр Геннадьевич** – младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии и патологии развития, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия, e-mail: algf@yandex.ru.

**Кубатиев Аслан Амирханович** – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия, e-mail: niiopp@mail.ru.

### Authors information

**Aleksandr V. V.** – Candidate (PhD) of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Blood Aggregation Regulation, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia, e-mail: aleksandrin-54@mail.ru.

**Ivanov Alexander V.** – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Blood Aggregation Regulation, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia, e-mail: Ivanov\_av82@mail.ru.

**Popov Mikhail A.** – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Angiopathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia, e-mail: popovcardio88@mail.ru.

**Filippov Alexander G.** – Junior Researcher, Laboratory of Cell Biology and Developmental Pathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia, e-mail: algf@yandex.ru.

**Kubatiev Aslan A.** – Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, MD, Scientific Director, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia, e-mail: niiopp@mail.ru.