

ГАФАРОВА М. Э., НАУМОВА Г. М.,
ГУЛЯЕВ М. В., КОШЕЛЕВ В. Б.,
СОКОЛОВА И. А., ДОМАШЕНКО М. А.

Агрегация-деагрегация и деформируемость эритроцитов при моделировании ишемического инсульта у крыс

*Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова
119192, Россия, г. Москва, Ломоносовский проспект, 31, корп. 5
e-mail: marina.gafarova5@gmail.com*

Реферат

Введение. Поражение ткани мозга при ишемическом инсульте неразрывно связано с прекращением или затруднением движения крови по микрососудам, которое, в свою очередь, во многом зависит от реологических свойств крови. Недостаток данных об изменении гемореологических параметров в процессе развития экспериментальной ишемии мозга затрудняет оценку релевантности ее моделей. Целью работы явилось исследование микрогемореологических параметров при экспериментальной фокальной ишемии головного мозга, развивающейся вследствие перевязки, а также тромбоэмболии средней мозговой артерии (СМА).

Материал и методы исследования. Фокальную ишемию мозга воспроизводили на крысах путем перевязки СМА или введения аутологичного тромба. Производили стандартную оценку неврологического дефицита, размеры очага ишемии оценивали методом магнитно-резонансной томографии и на срезах головного мозга. Кинетику агрегации и деагрегации эритроцитов изучали методом регистрации обратного светорассеяния, а деформируемость эритроцитов — методом эктацитометрии.

Результаты исследования и их обсуждение. Тяжесть неврологического дефицита коррелировала с объемом очага поражения. В 1–6-е сутки после начала заболевания при обоих способах моделирования ишемии, в отсутствие существенных изменений деформируемости эритроцитов, наблюдалось некоторое ускорение образования агрегатов эритроцитов. В то же время прочность эритроцитарных агрегатов изменялась разнонаправленно — в модели с перевязкой СМА она повышалась, а в тромбоэмболической модели — снижалась.

Выводы. Модели фокальной ишемии позволяют получить воспроизводимое и функционально значимое поражение вещества головного мозга, сопровождающееся изменениями агрегации-деагрегации эритроцитов. Способ достижения ишемии играет определенную роль в направлении гемореологических изменений.

Ключевые слова: модель ишемического инсульта, ЯМР-томография, гемореология.

Введение

Ишемический инсульт является одним из наиболее распространенных, тяжелых и инвалидизирующих заболеваний [3].

Поражение ткани мозга при этом заболевании неразрывно связано с энергетическим дисбалансом клеток мозга ввиду прекращения или затруднения движения крови по микрососудам, которое, в свою очередь, во многом зависит от реологических свойств крови [10, 11, 12, 14, 17].

Клинические исследования показали, что ишемическому инсульту сопутствует ряд показателей сосудистой гемодинамики и, в том числе, изменение гемореологических параметров, которые находятся в определенной связи с особенностями заболевания (этапом, тяжестью и обширностью инсульта), а также с прогнозом его течения [1, 4].

В то же время остается спорной применимость экспериментальных моделей ишемии, которые имеют немало модификаций [7]. Экспериментальные

модели ишемии мозга необходимы для разработки новых терапевтических подходов к лечению инсульта, однако пока успешность использования нейротропных и реперфузионных методов в эксперименте отнюдь не всегда приводит к безоговорочному успеху их использования в клинической практике [15].

Одним из факторов, затрудняющих оценку релевантности модельных исследований, может являться недостаток данных об изменении гемореологических параметров в процессе развития экспериментальной ишемии, в том числе фокальной, которая имитирует атеротромботический и кардиоэмболический подтипы инсульта [19].

В связи с этим целью данной работы явилось комплексное исследование микрогемореологических параметров при экспериментальной фокальной ишемии, развивающейся вследствие перевязки или тромбоэмболии средней мозговой артерии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Материал и методы исследования

Моделирование ишемического инсульта

Фокальную ишемию головного мозга воспроизводили на крысах-самцах популяции Wistar (весом 300–400 г, в возрасте 3–4 месяцев) в соответствии с протоколом, одобренным Локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр неврологии».

В первой серии опытов фокальную ишемию вызывали путем перевязки средней мозговой артерии [9] у наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг) крыс (группа 1Э, n=20). Артерию перевязывали непосредственно перед ее бифуркацией на фронтальную и париетальную ветви, добиваясь прекращения проксимального тока крови. Ложнооперированных контрольных крыс (группа 1Л, n=19) подвергали аналогичным процедурам, за исключением собственно окклюзии артерии.

Во второй серии опытов ишемию провоцировали путем введения во внутреннюю сонную артерию наркотизированных (внутрибрюшинным введением раствора хлоралгидрата, 400 мг/кг) животных содержащегося в физиологическом растворе аутологичного тромба (группа 2Э, n=9) [18, 19]. Тромб (длиной 20–30 мм) получали из крови (объемом 50–100 мкл), забранной за сутки до операции из хвостовой вены (на фоне обезболивания подкожным введением 0,25%-го раствора бупивакаина, 1 мл/кг). Кровь выдерживали в течение первых 2 часов при комнатной температуре, а последующие 22 часа — при температуре 4 °С. Ложнооперированным контрольным животным (группа 2Л, n=10) вводили аналогичный объем (5 мкл) физиологического раствора.

Оценка тяжести ишемического поражения

В первой серии опытов объем очага оценивали с использованием морфометрического анализа его цифровых изображений, полученных при сканировании окрашенных (2,3,5-трифенилтетразолием хлоридом) срезов (1 мм) головного мозга, извлеченных и замороженных сразу после эвтаназии животных (путем введения избыточной дозы хлоралгидрата).

В качестве показателя использовали площадь очага, определенную на срезе с его максимальным размером и выраженную в процентах по отношению к общей площади среза мозга [3].

Во второй серии объем очага оценивали с помощью такой же методики, но с учетом данных всех срезов мозга, суммируя получаемые площади поражения и умножая их на толщину срезов, т. е. получая общий объем поражения.

Кроме того, у животных второй серии в наркотизированном состоянии (дыхательной смесью 2 % изофлурана и кислорода) проводили оценку состояния головного мозга методом магнитно-резонансной томографии (МРТ; индукция магнитного поля — 7 Тл, мощность градиентной системы — 200 мТл/м; BioSpec 70/30USR, Bruker, Germany). При этом применялись стандартные протоколы исследования — T1, T2, DWI (b1000, диффузионно-взвешенное изображение).

Морфометрический анализ цифровых МР-изображений проводили с использованием программы «Image J» (Image Processing and Data Analysis in

Java, National Institutes of Health, USA, официальный сайт в России — www.imagej.ru). Оценивали площадь ишемического поражения на МР-срезах, полученных в режиме DWI, после чего суммировали ее для всех срезов и умножали на толщину среза, получая, таким образом, объем ишемического поражения.

Во второй серии экспериментов тестировали также неврологический статус по шкале оценки инсульта (stroke-index) МакГроу, по шкале Бендерсона и с помощью теста по ходьбе по решетке.

Исследование гемореологических параметров

У всех животных в пробах крови, забранной из подключичной вены и стабилизированной ЭДТА (1,5 мг/мл), через сутки, 3 и 6 дней после операции, при температуре 25 °С, тестировали гемореологические параметры, используя автоматический коаксиально-цилиндрический лазерный агрегометр-деформометр LADE (РеомедЛаб, Россия; реологический зазор — 0,9 мм). Предварительную оценку гематокрита осуществляли методом центрифугирования.

Кинетику спонтанной агрегации эритроцитов и их дезагрегации в сдвиговом потоке (скорости сдвига — от ~3 до ~150 с⁻¹) оценивали путем регистрации обратного светорассеяния.

Определяли показатели, характеризующие время образования агрегатов (Т), скорость начального этапа этого процесса (kТ), а также гидродинамическую прочность агрегатов (β). Деформируемость эритроцитов оценивали методом эктацитометрии, определяя максимальную (при скорости сдвига ~350 с⁻¹) растяжимость клеток в сдвиговом потоке (IDmax) [6].

Статистическая обработка данных

Полученные результаты были обработаны с помощью пакета программ «Statistica 8.0». Данные представлены в виде медианы и квартилей, Me (25 %, 75 %) и, для нормально распределенных данных, в виде средних значений ± стандартного отклонения (SD). Для сравнения экспериментальных и контрольных данных использовали U-критерий Манна–Уитни или непарный t-критерий Стьюдента.

Для выявления связи между данными использовали коэффициент корреляции Спирмана, r. Различия считались статистически значимыми при вероятности ошибки менее 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенное исследование показало, что в течение всего периода наблюдения после операций (6 суток) тестируемые показатели не претерпевали существенных изменений со временем, что позволило не разбивать данные на временные группы.

Первая серия экспериментов (модель фокального инсульта с перевязкой средней мозговой артерии)

У экспериментальных животных в этой серии опытов формировался очаг поражения головного мозга, составляющий 8,0±4,3 % от общей площади среза головного мозга, что совпадает с ранее проведенными нами опытами, в которых область некроза нормировалась на площадь только левого полушария [2]. Развитие ишемического инсульта не сопровождалось значительными изменениями гематокрита, деформируемости эритроцитов и кинетики их

Гематокрит (Hct) и показатели времени образования эритроцитарных агрегатов (Т), а также деформируемости эритроцитов (IDmax) у крыс с фокальной ишемией при перевязке средней мозговой артерии (группа 1Э) и у ложнооперированных животных (группа 1Л)

Таблица 1

Показатель	Группа 2Э	Группа 2Л	p (U-критерий Манна–Уитни)
Hct, %	41(39; 44)	41(39; 43)	0,769
T, с	3,68(3,01; 5,29)	5,08(4,50; 5,79)	0,091
IDmax	0,388(0,322; 0,450)	0,417(0,388; 0,447)	0,732

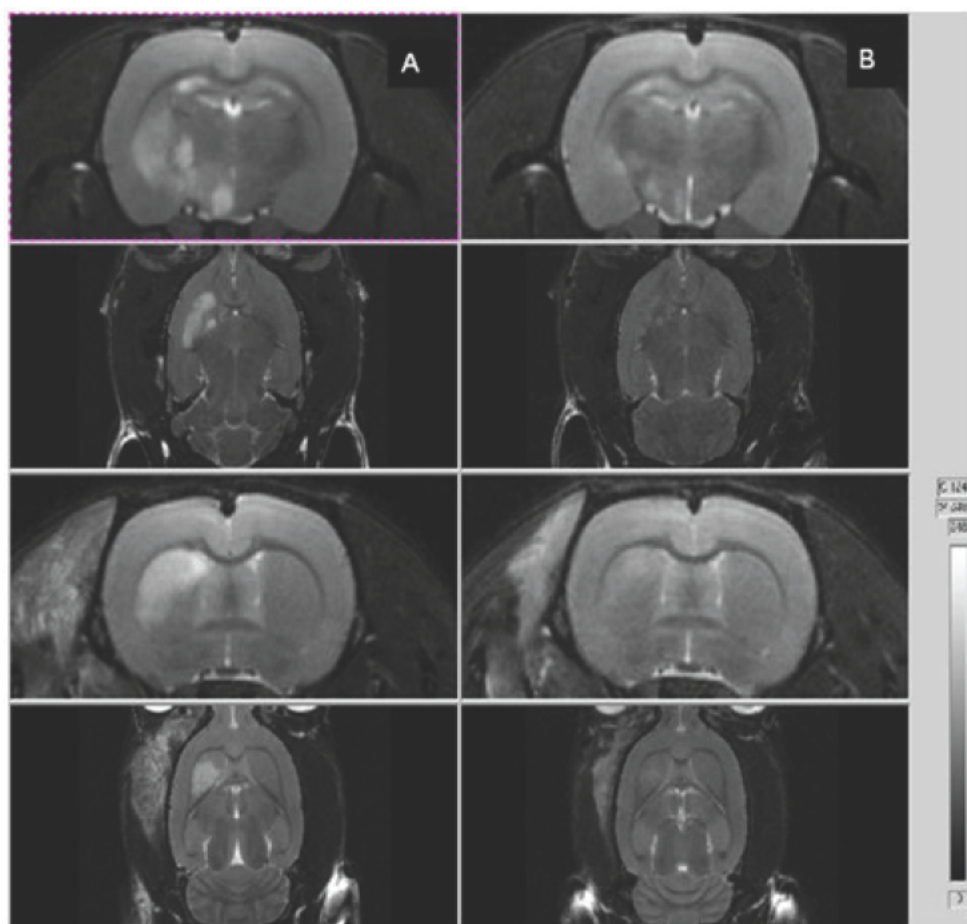


Рис. 1. Визуализация головного мозга с помощью магнитно-резонансной томографии (T1-взвешенный режим) у крыс с тромбоэмболическим инсультом (группа 2Э, А) и у ложнооперированных животных (группа 2Л, В). В группе 2Э (А, указано красными стрелками) наблюдается повышение интенсивности сигнала ткани мозга в подкорковой области, зоне кровоснабжения левой средней мозговой артерии, свидетельствующее о наличии ишемического поражения

агрегации в группе экспериментальных животных. Отмечалась лишь тенденция к уменьшению времени агрегации, т. е. к ее ускорению (табл. 1).

Прочность эритроцитарных агрегатов при заболевании значительно повышалась: в контроле их полный распад осуществлялся при скорости сдвига $33,5 \pm 16,4 \text{ с}^{-1}$, в то время как у животных с инсультом это происходило лишь при $105 \pm 53 \text{ с}^{-1}$ ($p < 0,001$).

Вторая серия опытов (тромбоэмболическая модель фокального инсульта)

Развитие поражения головного мозга у крыс с тромбоэмболическим инсультом (группа 2Э) показано на рис. 1.

В среднем по данным МРТ и гистологического исследования объем очага поражения в группе 2Э достигал 281 (182; 306) мм^3 . Тестирование невро-

логического статуса (табл. 2) выявило выраженные признаки очагового поражения вещества головного мозга у животных с тромбоэмболическим инсультом.

Тяжесть неврологического дефицита коррелировала с объемом очага поражения ($\rho = 0,81$, $p = 0,008$; рис. 2).

Гемореологическое тестирование (табл. 3) не выявило существенных изменений в деформируемости эритроцитов (IDmax) и в кинетике их агрегации (kT, T) при заболевании. Тем не менее ускорение начальных этапов образования агрегатов коррелировало с усилением неврологической симптоматики ($\rho = 0,78$, $p = 0,020$) (рис. 3).

Прочность эритроцитарных агрегатов у крыс с тромбоэмболическим инсультом оказалась уменьшенной по сравнению с контролем (табл. 3, β).

Показатели неврологического статуса у крыс с тромбоэмболическим инсультом (группа 2Э)
и у ложнооперированных животных (группа 2Л)

Таблица 2

Показатель	Группа 2Э (N=9)		Группа 2Л (N=10)		p (U-критерий Манна–Уитни) для группы 2Э
	до операции	после операции	до операции	после операции	
Проваливания лап при ходьбе по решетке за 1 мин	0	3 (2;8)	0	0	<0,001
Шкала инсульта МакГроу, баллы	0	1 (1;2)	0	0	<0,001
Шкала Бендерсона, баллы	0	2 (1;4)	0	0	<0,001

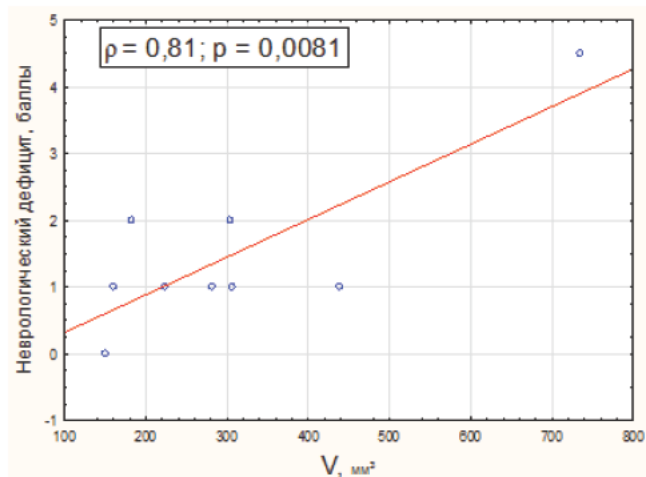


Рис. 2. Корреляция между выраженностью неврологического дефицита (в баллах по шкале Бендерсона) и объемом ишемического поражения (V , мм³) у крыс с тромбоэмболическим инсультом (группа 2Э)

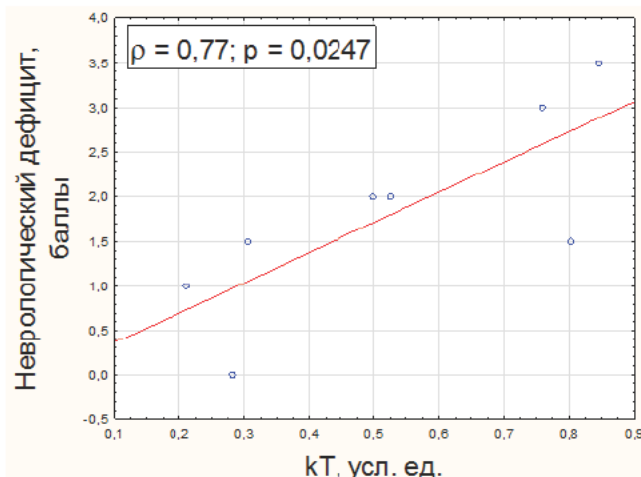


Рис. 3. Корреляция между выраженностью неврологического дефицита по шкале МакГроу и показателем начальной скорости образования эритроцитарных агрегатов (кТ)

Гематокрит (Нст) и показатели времени образования эритроцитарных агрегатов (Т), скорости начальных этапов этого процесса (кТ) и прочности агрегатов (β), а также деформируемости эритроцитов (IDmax) у крыс с тромбоэмболическим инсультом (группа 2Э) и у ложнооперированных животных (группа 2Л)

Таблица 3

Показатель	Группа 2Э	Группа 2Л	p (U-критерий Манна–Уитни)
Нст, %	43 (42; 45)	41 (38; 46)	0,5696
Т, с	4,93 (4,56; 7,16)	6,68 (4,50; 9,79)	0,6607
кТ, усл. ед.	0,51 (0,29; 0,78)	0,55 (0,32; 0,64)	0,8285
β, с ⁻¹	36,9 (30,9; 46,4)	50,6 (43,8; 54,8)	0,0220
IDmax	0,521 (0,482; 0,633)	0,590 (0,434; 0,645)	0,8285

Наши эксперименты показали, что уже на начальных этапах ишемического инсульта наблюдается не только тенденция к ускорению эритроцитарной агрегации, но и связь этого феномена с усугублением неврологического дефицита. Такие однонаправленные изменения могут свидетельствовать о нарушении движения крови по микрососудам, не проходящем без последствий. Это согласуется с данными клинических исследований. Так, при ишемическом инсульте у людей наблюдается ухудшение реологических свойств крови с увеличением гематокрита, снижением деформируемости эритроцитов и усилением их агрегации [5, 13], причем между изменением

клинической картины и выраженностью гемореологических нарушений наблюдается параллелизм, который сохраняется и в процессе лечения заболевания — по мере регресса неврологического дефицита улучшаются и гемореологические показатели [5]. Все это говорит о включении гемореологических факторов в патогенез развития инсульта.

В то же время в данной работе было обнаружено связанное со способом моделирования инсульта различие в дезагрегации эритроцитарных агрегатов — в случае перевязки средней мозговой артерии прочность агрегатов повышалась, а в случае тромбоэмболической модели она, наоборот, снижалась.

Повышение прочности наблюдалось тогда, когда первичный поражающий фактор прикладывался непосредственно к сосуду и исходно мало затрагивал систему крови. Прочность эритроцитарных агрегатов является достаточно существенным детерминантом микроциркуляции, и ее повышение, т. е. ухудшение разъединения клеток, как правило, сопровождается затруднением кровотока [8].

Вместе с тем экспериментальная гиперагрегация, благодаря ускоренной миграции агрегатов эритроцитов к оси потока и формированию пристеночного плазматического слоя-«смазки», может сопровождаться и облегчением кровотока на уровне артериол [16].

В наших экспериментах благоприятная для микроциркуляции модификация гемореологических свойств наблюдалась в явном виде — во второй серии опытов, у крыс с тромбозмболическим инсультом, когда прочность эритроцитарных агрегатов уменьшалась. Это могло быть связано с тем, что при введении тромба в сосуд первичное воздействие оказывалось непосредственно на систему крови и могло сопровождаться изменением баланса системы гемостаза, что, в свою очередь, могло влиять на суспензионное состояние крови. Для дальнейшей конкретизации механизмов наблюдаемых изменений требуется специальное исследование.

В целом модели фокальной ишемии головного мозга у крыс позволяют получить воспроизводимое ишемическое поражение вещества головного мозга, которое значимо отражается на поведении животных, и сопутствующий неврологический дефицит обнаруживается по результатам простых сенсомоторных тестов. Для крыс с ишемией мозга характерны гемореологические изменения, которые наблюдают и при ишемическом инсульте у людей, в частности, ускорение агрегации эритроцитов и, в случае модели с перевязкой сосуда, увеличение прочности эритроцитарных агрегатов.

Вместе с тем в тромбозмболической модели могут быть реализованы и некоторые адаптивные изменения реологических показателей крови, выражающиеся в уменьшении прочности эритроцитарных агрегатов.

Таким образом, использованные модели позволяют получить достаточно широкий спектр гемореологических изменений, что небезынтересно при разработке как реперфузионных, так и нейротекторных подходов к лечению ишемического инсульта.

Последующее применение данных моделей, в том числе с оценкой влияния различных препаратов, будет способствовать развитию наших представлений о гемореологических изменениях в течение ишемического поражения головного мозга и их значимости.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 14-15-00602.

Литература

Бузиашивили Ю. И., Мацкеплишвили С. Т., Мамалыга М. Л. Особенности гемодинамики и регуляции сердечного ритма в разные периоды после ишемического инсульта // Журнал неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2014. Т. 114. № 8. Вып. 2. С. 14–20.

2. Самойленкова Н. С., Гаврилова С. А., Дубина А. И. и др. Роль АТФ-зависимых калиевых каналов в процессе гипоксического и ишемического прекодиционирования у крыс с фокальной ишемией мозга // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2007. № 4 (24). С. 68–77.

3. Суслина З. А., Варакин Ю. Я. Эпидемиологические аспекты изучения инсульта. Время подводить итоги // Анналы клин. и эксперимент. неврол. 2007. Т. 1. № 2. С. 22–28.

4. Суслина З. А., Танашиян М. М., Ионова В. Г. Ишемический инсульт: кровь, сосудистая стенка, антитромботическая терапия. М.: Мед. книга, 2005. 248 с.

5. Танашиян М. М. Гемостаз, гемореология и атромбогенная активность сосудистой стенки в ангионеврологии // Анналы клин. и эксперимент. неврол. 2007. Т. 1. № 2. С. 29–33.

6. Фирсов Н. Н., Джанашиян П. Х. Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию: монография / Росс. гос. мед. ун-т. М., 2008. 276 с.

7. Шмонин А. А. Перевязка средней мозговой артерии крысы: сравнение модификаций моделей фокальной ишемии мозга у крыс // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2011. № 3 (39). С. 68–76.

8. Cabel M., Meiselman H. J., Popel A. S. et al. Contribution of red blood cell aggregation to venous vascular resistance in skeletal muscle // Am. J. Physiol. 1997. Vol. 272 (2 Pt 2). P. 1020–1032.

9. Chen S. T., Hsu C. Y., Hogan E. L. et al. A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical

infarction // Stroke. 1986. Vol. 17. № 4. P. 738–743.

10. Dalkara T., Arsava E. M. Can restoring incomplete microcirculatory reperfusion improve stroke outcome after thrombolysis? // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2012. Vol. 32. № 12. P. 2091–2099.

11. del Zoppo G. J., Mabuchi T. Cerebral microvessel responses to focal ischemia // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2003. Vol. 23. № 8. P. 879–894.

12. Gaehtgens P., Marx P. Hemorheological aspects of the pathophysiology of cerebral ischemia // J. Cereb. Blood Flow Metab. 1987. Vol. 7. № 3. P. 259–265.

13. Gao S. J. A study of erythrocyte deformability using an ektacytometer in normal adults and in patients with acute cerebral infarction // Zhonghua Shen Jing Jing Shen Ke Za Zhi. 1989. № 3. P. 155–156.

14. Meiselman H. J., Baskurt O. K. Hemorheology and hemodynamics: Dove and/or? // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2006. Vol. 35. № 1–2. P. 37–43.

15. Mergenthaler P., Meisel A. Do stroke models model stroke? // Dis Model Mech. 2012. Vol. 5. № 6. P. 718–725.

16. Pearson M. J., Lipowsky H. H. Effect of fibrinogen on leukocyte margination and adhesion in postcapillary venules // Microcirculation. 2004. Vol. 11. № 3. P. 295–306.

17. Silachev D. N., Plotnikov E. Y., Pevzner I. B. et al. The mitochondrion as a key regulator of ischaemic tolerance and injury // Heart, Lung and Circulation. 2014. Vol. 23. P. 897–904.

18. Wang-Fischer Y. et al. Manual of stroke models in rats / eds by Y. Wang-Fischer. Taylor & Francis Group, LLC, 2009. P. 238.

19. Zhang Z., Zhang R. L., Jiang Q. et al. A new rat model of thrombotic focal cerebral ischemia // Cereb. Blood Flow Metab. 1997. Vol. 17. № 2. P. 123–135.

**Gafarova M. E., Naumova G. M., Gulyaev M. V.,
Koshelev V. B., Sokolova I. A., Domashenko M. A.**

Erythrocyte (dis)aggregation in stroke model in rats

*Faculty of Basic Medicine, M.V. Lomonosov Moscow State University
119192, Lomonosovskiy prospect, 31 building 5, Moscow, Russia
e-mail: marina.gafarova5@gmail.com*

Abstract

Introduction and aim of the study. Ischemic stroke develops in conjunction with interruption of blood flow in microvessels that depends on rheological blood properties. There is a lack of knowledge in hemorheological features of experimental stroke making more difficult to value the relevance of stroke models. The study aims investigation of microhemorheological parameters in two experimental stroke models — thromboembolic model and middle cerebral artery (MCA) ligation model.

Methods. Male Wistar rats were subjected to focal brain ischemia in MCA ligation stroke model or thromboembolic stroke model. The neurological deficit, the size of ischemic brain lesion and hemorheological parameters (hematocrit, kinetics of red blood cells (RBC) (dis)aggregation and RBC deformability) were evaluated.

Results. The neurological deficit was correlated with the size of brain ischemic lesion. The increased rate of RBC aggregate formation was detected in both stroke models. At the same time, the strength of RBC aggregates changed in a model-dependent manner, namely, it raised sharply in the MCA ligation stroke model, but was somewhat decreased in thromboembolic stroke model.

Conclusion. The focal stroke models produce repeatable and neurologically significant lesions of brain followed with fundamental changes in the hemorheological parameters. The way of ischemia producing can be crucial for the direction of hemorheological changes.

Keywords: ischemic stroke model, RBC aggregation.

References

1. Buziashvili Ju.I., Mackeplishvili S.T., Mamalyga M.L. *Osobennosti gemodinamiki i reguljacji serdechnogo ritma v raznye periody posle ishemicheskogo insulta* [Special signs of hemodynamic and cardiac rhythm regulation at different periods after ischemic insult] // Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. S.S. Korsakova. [S.S. Korsakov Neurology and psychiatry journal]. 2014. V. 114, N 8 (2). P. 14–20. [In Russian].
2. Samojlenkova N.S., Gavrilova S.A., Dubina A.I. et al. *Rol' ATF-zavisimyh kaliyevyh kanalov v processe gipoksicheskogo i ishemicheskogo pre kondicionirovaniya u krysa s fokal'noj ishemiej mozga* [Role of ATP-dependent K-channels in the process of hypoxic and ischemic preconditioning in rats with focal brain ischemia] // Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrocirkuljacija. [Regional hemodynamic and microcirculation] 2007. N4 (24). P.68-77. [In Russian]
3. Suslina Z.A., Varakin Ju.Ja. *Jepidemiologicheskie aspekty izucheniya insulta. Vremja podvodit' itogi* [Epidemiological aspects of insult research. Time to resume] // Annaly klinicheskoy i jeksperimental'noj nevrologii [Annals of clinical and experimental neurology]. 2007. V. 1. N 2. P. 22-28. [In Russian].
4. Suslina Z.A., Tanashjan M.M., Ionova V.G. *Ishemicheskij insult: krv', sosudistaja stenka, antitromboticheskaja terapija* [Ischemic insult: blood, vessel wall, antithrombotic therapy] // Medicinskaja kniga [Medical book]. 2005. 248 p. [In Russian].
5. Tanashjan M.M. *Gemostaz, gemoreologija i atrombogennaja aktivnost' sosudistoj stenki v angionevrologii* [Hemostasis, hemorrheological and athrombotic activity of vessel wall in angioneurology] // Annaly klinicheskoy i jeksperimental'noj nevrologii [Annals of clinical and experimental neurology]. 2007. V. 1. N 2. P. 29-33. [In Russian].
6. Firsov N.N., Dzhanashija P.H. *Vvedenie v jeksperimental'nuju i klinicheskiju gemoreologiju* [Introduction experimental and clinical hemorrheology] // «Rossijskij gosudarstvennyj medicinskij universitet» [Russian State Medical University], Moscow, 2008. – 276 p. [In Russian].
7. Shmonin A.A. *Perevjazka srednej mozgovoju arterii krysa: sravnenie modifikacij modelej fokal'noj ishemii mozga u krysa* [Middle cerebral artery ligation in rats: comparison between models of focal brain ischemia] // Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrocirkuljacija [Regional hemodynamics and microcirculation]. 2011. N3 (39). P.68-76. [In Russian].
8. Cabel M., Meiselman H. J., Popel A. S. et al. *Contribution of red blood cell aggregation to venous vascular resistance in skeletal muscle* // Am J Physiol. 1997. V. 272(2 Pt 2). P. 1020-1032.
9. Chen S. T., Hsu C. Y., Hogan E. L. et al. *A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction* // Stroke. 1986. V. 17. N 4. P. 738-743.
10. Dalkara T., Arsava E. M. *Can restoring incomplete microcirculatory reperfusion improve stroke outcome after thrombolysis?* // J Cereb Blood Flow Metab. 2012. V. 32. N12. P. 2091-2099.
11. del Zoppo G. J., Mabuchi T. *Cerebral microvessel responses to focal ischemia* // J Cereb Blood Flow Metab. 2003. V. 23. N 8. P. 879-894.
12. Gaetgens P, Marx P. *Hemorheological aspects of the pathophysiology of cerebral ischemia* // J Cereb Blood Flow Metab. 1987. V. 7. N 3. P.259-265.
13. Gao S. J. *A study of erythrocyte deformability using an ektacytometer in normal adults and in patients with acute cerebral infarction* // Zhonghua Shen Jing Jing Shen Ke Za Zhi. 1989. N3 P. 155-156.
14. Meiselman H. J., Baskurt O. K. *Hemorheology and hemodynamics: Dove and are?* // Clin Hemorheol Microcirc. 2006. Vol. 35. N1-2. P. 37-43.
15. Mergenthaler P., Meisel A. *Do stroke models model stroke?* // Dis Model Mech. 2012. V. 5. N 6. P. 718-725.

16. Pearson M. J., Lipowsky H. H. *Effect of fibrinogen on leukocyte margination and adhesion in postcapillary venules* // *Microcirculation*. 2004. V. 11. N3. P. 295-306.

17. Silachev D.N., Plotnikov E.Y., Pevzner I.B. et al. *The mitochondrion as a key regulator of ischaemic tolerance and injury* // *Heart, Lung and Circulation*. 2014. V.23. P.897-904.

18. Wang-Fischer Y. et al. *Manual of stroke models in rats* / edited by Wang-Fischer Y. // 2009 .Taylor & Francis Group, LLC. – P. 238.

19. Zhang Z.,Zhang R. L.,Jiang Q. et al. *A new rat model of thrombotic focal cerebral ischemia* // *Cereb Blood Flow Metab.*1997. V. 17. N2. P. 123-135.