https://doi.org/10.17116/jnevro20171178256-62

Фокальная ишемия головного мозга у крыс на фоне недостаточности эстрогенов и эндотелиальной дисфункции

А.А. ЛИТВИНОВ[1], Е.В. ВОЛОТОВА[1]*, Д.В. КУРКИН[1], Е.О. ЛОГВИНОВА[1], А.П. ДАРМАНЯН[2], И.Н. ТЮРЕНКОВ[1]

[1]ФУВ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия; [2]ФГБОУ ВПО «Волгоградский государственный аграрный университет» Минздрава России, Волгоград, Россия

Цель исследования. Оценить влияние овариэктомии (ОЭ) на мозговой кровоток, эндотелийзависимой вазодилатации, неврологического, локомоторного и мнестического дефицита после фокальной ишемии у крыс как функционального показателя выраженности повреждения головного мозга. **Материал и методы.** Исследование проведено на 48 крысах-самках линии Вистар. ОЭ осуществляли путем удаления яичников с телом матки, ишемию головного мозга моделировали путем окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) у крыс. Для оценки повреждения мозга использовали шкалы Combs и Garcia, тесты «открытое поле», «экстраполяционное избавление», «условная реакция пассивного избегания», «сужающаяся дорожка». Измерение уровня мозгового кровотока животных осуществляли с помощью ультразвуковой флоуметрии. **Результаты и заключение.** Мозговой кровоток животных с недостаточностью эстрогенов через 7 сут после ОСМА был ниже на 20% по сравнению с животными с ОСМА, но не подвергшихся ОЭ. На модели ОСМА у овариэктомированных животных было показано трехкратное снижение эндотелийзависимой вазодилатации (реакция мозговых сосудов на введение ацетилхолина и нитро-L-аргинина), что свидетельствовало о выраженной эндотелиальной дисфункции. У животных, подвергшихся ОЭ, мозговой кровоток в сравнении с ложнооперированными животными оказался на 34% ниже. ОСМА на фоне ОЭ приводило к формированию в 2 раза более выраженных неврологических, моторных нарушений, сниженной в 3 раза двигательной активности животных в тесте «открытое поле». Фокальная ишемия у овариэктомированных животных на фоне эндотелиальной дисфункции приводила к снижению мнестической активности 1,5 раза в тесте «условная реакция пассивного избегания» и в 2 раза в тесте «экстраполяционное избавление».

***Ключевые слова**: нарушение мозгового кровообращения, окклюзия среднемозговой артерии, недостаточность эстрогенов, овариэктомия.*

Focal cerebral ischemia in rats with estrogen deficiency and endothelial dysfunction

A.A. LITVINOV, E.V. VOLOTOVA, D.V. KURKIN, E.O. LOGVINOVA, A.P. DARMANYAN, I.N. TYURENKOV

[1]Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; [2] Volgograd State Agrarian university, Volgograd, Russia

Objective. To assess an effect of ovariectomy (OE) on the cerebral blood flow, endothelium-dependent vasodilation, neurological, cognitive and locomotor deficit as markers of brain damage after focal ischemia in rats. **Material and methods.** The study was conducted in 48 female Wistar rats. Ovariectomy was performed with ovaries and uterine body extirpation, cerebral ischemia was performed by middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats. To assess brain damage, Combs and Garcia scores, «open field» test (OFT), «extrapolatory escape test» (EET), «passive avoidance test» (PAT), «beam-walking test» were used. Cerebral blood flow was measured using ultrasonic flowmetry. **Results and conclusion.** After 7 days of MCAO, the cerebral blood flow in ovarioectomized animals was reduced by 20% compared to sham-ovariectomized animals. Ovariectomized animals with MCAO showed a three-fold endothelium-dependent vasodilation reduction (the reaction of cerebral vessels to the introduction of acetylcholine and N-L-arginine), indicating the presence of severe endothelial dysfunction. In ovarioectomized animals, the cerebral blood flow was reduced by 34% compared to sham-operated animals. MCAO and OE taken together resulted in more than 2-fold increase in neurological, motor disturbances, 3-fold decrease in motor activity of the animals in the OP test. Focal ischemia in ovarioectomized animals with endothelial dysfunction led to memory decrease by 1/5 fold in PAT and by 2-fold in EET.

***Keywords:** acute cerebral infarction, MCAO, estrogen deficiency, ovariectomy.*

В последние годы внимание специалистов привлекает изучение функции сосудистого эндотелия как одного из наиболее важных звеньев в патогенезе цереброваскулярных заболеваний. Особое место занимает эндотелиальная дисфункция (ЭД), возникающая в постменопаузальный период у женщин, так как при этом снижается содержание эстрогена — гормона, обладающего выраженными плейотропными, в том числе сосудистыми эффектами. Эстрогены обладают антиоксидантным, противовоспали-

© Коллектив авторов, 2017

*e-mail: a-zlato@mail.ru

тельным и вазодилатирующим действием, активируя eNOS [1], поэтому у женщин после достижения менопаузы возрастает риск нарушений мозгового кровообращения и сердечно-сосудистых заболеваний [2]. Постменопаузальный период, моделируемый у животных путем овариэктомии (ОЭ), характеризуется усилением чувствительности сосудов к вазоконстрикторным агентам и снижению образования вазодилатирующих веществ, таких как оксид азота (NO) и эндотелиальный гиперполязирующий фактор, что также снижает эндотелийзависимую вазодилатацию [3].

Поэтому в последние годы активно исследуется ЭД, связанная с недостаточностью половых гормонов и ее ролью в патогенезе цереброваскулярных нарушений [4—6]. Однако результаты экспериментальных исследований эффективности гормональной терапии при недостаточности мозгового кровообращения у овариэктомированных животных достаточно противоречивы.

Моделирование недостаточности половых гормонов позволяет создать преморбидный фон, имеющий место в реальной клинической практике, предваряющий развитие цереброваскулярных расстройств, что в значительной степени увеличивает валидность скрининга церебропротективных средств.

Цель настоящего исследования — оценка влияния ОЭ на функциональные показатели выраженности повреждения головного мозга после фокальной ишемии у крыс: мозговой кровоток, эндотелийзависимую вазодилатацию, неврологический, локомоторный и мнестический дефицит.

Материал и методы

Исследование было проведено на 48 крысах-самках линии Вистар массой 200—220 г (ПЛЖ «Рапполово», Санкт-Петербург). Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ №267 от 19.06.03. «Об утверждении правил лабораторной практики». При проведении экспериментов учитывались требования Комиссии по проблеме этики отношения к животным Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук и этические нормы, признанные мировым сообществом и изложенные в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985).

Оценка влияния ОЭ на последствия ишемии головного мозга проводилась на модели окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) у крыс.

Для исследования были сформированы следующие группы животных: ЛО — ложнооперированные животные, у которых осуществлялся операционный доступ к яичникам и матке без их удаления, а также к сонной артерии без введения филамента для ОСМА; ОЭ — животные, которые подвергались ОЭ без дальнейшего моделирования ОСМА; ОСМА — животные, которые подвергались ОСМА в отсутствие предварительной ОЭ; ОЭ+ОСМА — животные, которые подвергались ОЭ и ОСМА.

Исследование проводилось в следующей последовательности: через 1 сут после рандомизации животных осуществляли обучение в тестах «открытое поле», «экстраполяционное избавление», «условная реакция пассивного избегания», через 2 сут у животных проводили ОЭ. Спустя 30 сут осуществляли проверку сохранения рефлекса пассивного избегания и экстраполяционного избавления от аверсивной среды, после чего еще через 1 сут моделировали фокальную ишемию. Оценку моторного и мнестического дефицита проводили через 1, 4 и 7 сут после ишемии головного мозга, далее после наркотизации животных проводили оценку исходного мозгового кровотока и его изменение при введении модуляторов синтеза NO.

ОЭ осуществляли под хлоралгидратным наркозом (400 мг/кг интраперитонеально) путем удаления яичников с телом матки. Для развития постменопаузальных изменений у животных после ОЭ отводилось 30 сут, после чего у них моделировалась фокальная ишемия головного мозга по методике, предложенной E. Longa и соавт. [7].

Неврологический дефицит оценивали через 1, 4 и 7 сут после ОСМА по шкалам Combs [8] и Garcia [9].

Итоговый балл по шкале Combs формируется как сумма баллов в 3 двигательных тестах, определяющих мышечную силу, цепкость-тягу и равновесие, что позволяет оценить функциональное состояние экстрапирамидной системы. Шкала оценки неврологического дефицита Garcia позволяет оценить асимметричность движений и реакций животного, итоговые данные формируются как сумма баллов 6 тестов: спонтанной активности, симметрии при движении лап, вытягивания лап, залезания по экрану-сетке, проприорецепции тела и вибриссе животных.

Более детально выраженность асимметрических моторных нарушений у животных оценивалась в тесте «сужающаяся дорожка» («Beam-walking test») [10]. Процесс тестирования регистрировался видеокамерой с последующим анализом числа соскальзываний противоположной конечностью и односторонней конечностью относительно стороны повреждения на борт нижерасположенной планки. Среднее значение актов соскальзывания, полученное в 3 испытаниях, бралось для анализа. Данные представляли в виде коэффициента асимметрии (КА), который рассчитывали по формуле [10]:

$$КА=\frac{КОПК+КООК}{ОКШНД},$$

где: КОПК — количество ошибок противоположной конечностью; КООК — количество ошибок односторонней конечностью; ОКШНД — общее количество шагов на дорожке.

Таблица 1. **Уровень мозгового кровотока при введении ацетилхолина у исследуемых групп животных**

Показатель	Группа			
	ЛО	ОЭ	ОСМА	ОЭ+ОСМА
Исходный уровень мозгового кровотока	4,7 [4,5; 4,7]	3,5 [3,5; 4,0]	2,9 [2,7; 3,1]	2,3 [2,0; 2,3]
Мозговой кровоток после введения ацетилхолина	5,8 [5,7; 6,6]	3,9 [3,5; 4,2]	3,3 [3,7; 3,0]	2,4 [2,2; 2,5]
% изменения от исходного уровня мозгового кровотока	22	10	14	4

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха, если не указано иное; % изменения от исходного уровня кровотока = (уровень мозгового кровотока после введения модификатора — исходный уровень мозгового кровотока)/исходный уровень мозгового кровотока·100%.

Таблица 2. **Уровень мозгового кровотока при введении нитро-L-аргинина у исследуемых групп животных**

Показатель	Группа			
	ЛО	ОЭ	ОСМА	ОЭ+ОСМА
Исходный уровень мозгового кровотока	4,6 [4,4; 4,7]	3,6 [3,4; 4,0]	3,0 [2,8; 3,2]	2,2 [1,9; 2,4]
Мозговой кровоток после введения нитро-L-аргинина	3,3 [3,1; 3,4]	2,6 [2,5; 2,9]	2,5 [2,3; 2,7]	1,1 [0,9; 1,2]
% изменения от исходного уровня мозгового кровотока	−31	−27	−12	−11

Исследование поведенческой активности животных проводилось с помощью теста «открытое поле», оценка мнестической функции — в помощью тестов «условная реакция пассивного избегания» и «экстраполяционное избавление» по схеме, описанной выше.

Оценку уровня мозгового кровотока животных осуществляли с помощью ультразвуковой флоуметрии на допплерографе Минимакс-Допплер-К (ООО «СП-Минимакс», Россия) с использованием датчика с рабочей частотой в 25 Гц, мозговой кровоток животных регистрировали в проекции средней мозговой артерии на стороне окклюзии. Для оценки вазодилатирующей функции эндотелия мозговых сосудов использовали комплексный методический подход, предложенный И.Н. Тюренковым и А.В. Воронковым [11], который заключался в изучении изменений уровня мозгового кровотока в ответ на введение различных модификаторов синтеза эндогенного NO. Используемые модуляторы системы NO вводились внутривенно, в следующей последовательности: 0,01 мг/кг ацетилхолина («Acrosorganics», США), 10 мг/кг нитро-L-аргинина («Acrosorganics», США) [11]. Каждое введение анализатора осуществлялось после возвращения уровня мозгового кровотока до исходного уровня. В зависимости от увеличения или уменьшения мозгового кровотока по отношению к исходному судили соответственно о расширении или сужении просвета сосудов у животных опытной и контрольной групп, а также об участии системы NO в регуляции тонуса сосудов.

Показатели балльной оценки неврологического дефицита в группе животных представлены медианой и интерквартильным размахом [25-й; 75-й перцентиль] [12]. В исследовании был запланирован промежуточный анализ данных. Сравнение данных проводили с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни. Попарные множественные сравнения данных осуществляли между группами ОСМА и ОЭ+ОСМА, а также между ОЭ и ОЭ+ОСМА с помощью критерия Крускала—Уоллиса. Различия принимались статистически значимыми при $p<0,05$. Обработку данных производили с помощью пакетов программ BioStat 2008 и Statistica 6.0.

Результаты

Вазодилатирующая функция эндотелия и мозговой кровоток

В **табл. 1** и **2** представлены результаты оценки исходного мозгового кровотока и его изменение при введении ацетилхолина и нитро-L-аргинина в исследуемых группах животных. В группах ЛО и ОЭ отмечалось выраженное статистически значимое изменение мозгового кровотока при введении модификаторов синтеза NO, что свидетельствовало о наличии сохранной реактивности мозговых сосудов. Наоборот, статистически незначимые малые изменения кровотока от исходного уровня наблюдались в группах ОСМА и ОЭ+ОСМА, что показывало снижение выработки стимулируемой и базальной продукции NO, эндотелийзависимой вазодилатации и, таким образом, говорило о наличии выраженной ЭД у животных этих групп. При этом в группе ОЭ+ОСМА отмечалось наименьшее статистически значимое изменение мозгового кровотока под влиянием ацетилхолина в сравнении с группой ОСМА, что показывало наличие более выраженной ЭД в этой группе.

Исходный уровень мозгового кровотока у овариэктомированных животных был статистически значимо меньше (на 34,3%), чем у ложнооперированных животных. Также статистически значимо мозговой кровоток был ниже у животных, перенес-

ших ОСМА на фоне недостаточности эстрогенов, по сравнению с самками с ОСМА, но с сохраненными гормонпродуцирующими органами. Эти различия в уровне мозгового кровотока у животных с ОЭ и без нее подчеркивают важную роль половых гормонов в формировании тонуса церебральных сосудов. Можно предположить, что снижение кровотока у овариэктомированных самок обусловлено недостаточностью эндотелиотропного действия эстрогенов и развитием ЭД.

Таким образом, результаты оценки мозгового кровотока подтвердили наличие ЭД в группах животных после ОЭ. При этом в условиях фокальной ишемии фиксировалось более выраженное нарушение мозговой гемодинамики и реактивности сосудов на введение модификаторов синтеза NO, т.е. более выраженная ЭД.

Неврологический дефицит

Моделирование ОЭ и ОСМА приводило к формированию неврологического дефицита, выраженность и динамика которого в большей степени различалась между группами в течение первых 7 сут после ОСМА **(рис. 1)**. В группе ЛО у животных с 1-х по 7-е сутки наблюдался низкий уровень неврологического дефицита, поэтому он не указан на **рисунке**. Неврологический дефицит по обеим шкалам в группе ОСМА с 1-х по 7-е сутки снижался в 2—3 раза, в то время как в группе ОЭ+ОСМА он оставался на высоком уровне на протяжении 7 сут наблюдения. Так, у животных отмечалась низкая способность удерживаться на вертикальной сетке, горизонтальном стержне и веревке. По шкале Combs **(см. рис. 1, а)** неврологический дефицит у животных с комбинированной патологией, т.е. в группе ОЭ+ОСМА, через 4 и 7 сут после ОСМА был выше в 3 раза по сравнению с группой животных, у которых была проведена только ОЭ.

По шкале Garcia через 4 и 7 сут после моделирования ОСМА наблюдалось двукратное различие между показателями группы ОЭ и группы ОЭ+ОСМА **(см. рис. 1, б)**. Через 4 сут различия между медианами в группах ОСМА и ОЭ+ОСМА составляло 4 балла, а через 7 сут — 5 баллов соответственно, что выражалось в нарушении симметрии моторики движения конечностей, а также реакции на прикосновения к телу и вибриссам.

Таким образом, оценка неврологического дефицита после моделирования ОЭ и ОСМА показала, что в результате сочетанного воздействия повреждающих факторов (недостаточность половых гормонов и фокальная ишемия, вызванная ОСМА) формируется стойкий неврологический дефицит, сохраняющийся на протяжении 7 сут после ОСМА.

Асимметрические нарушения моторики у животных с ОЭ и ОСМА оценивали по тесту «сужающаяся дорожка» **(рис. 2)**. В группах ЛО и ОЭ медианы показателей асимметрии на протяжении всего периода тестирования и участках дорожки были приблизительно равны нулю, поэтому они не указаны на **рисунке** и в **таблицах**.

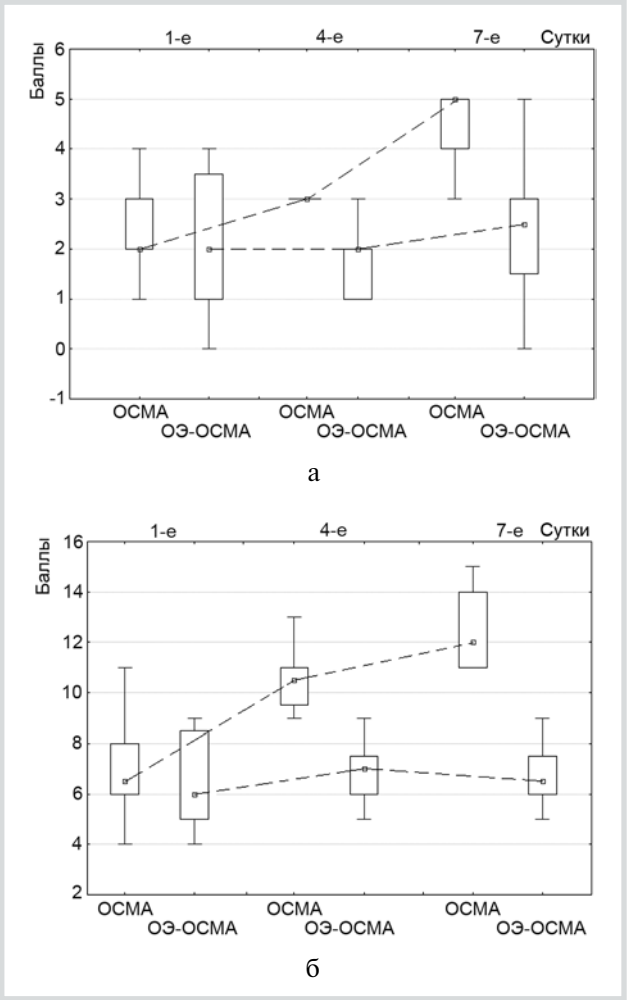

Рис. 1. **Неврологический дефицит по шкале Combs (а) и моторный асимметрический дефицит по шкале Garcia (б) на 1, 4 и 7-е сутки после ОСМА.**

Результаты тестирования показали, что через 1 сут после ОСМА у животных был выраженный асимметрический дефицит, который прогрессировал к 7-м суткам после моделирования. Так, у животных с сочетанной патологией (ОЭ и ОСМА) через 4 и 7 сут на всех участках дорожки количество соскальзываний противоположной конечностью значительно превышало количество соскальзываний односторонней конечностью и, таким образом, показатель асимметрии был больше в 2 раза, чем в группе ОСМА **(см. рис. 2)**.

Анализ асимметрии моторики животных на одном и том же участке дорожки через 4 и 7 сут после ОСМА показал, что в группе ОСМА процент асимметрии менялся незначительно. Однако для группы ОЭ+ОСМА показатель через 7 сут оказался в 2 раза выше, чем таковой в предыдущий период наблюде-

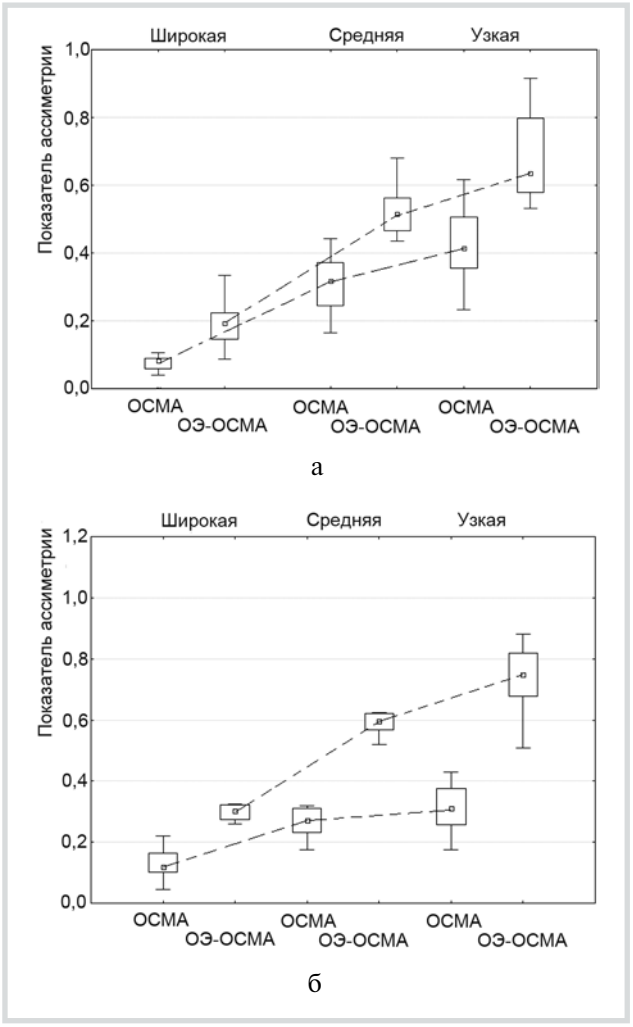

Рис. 2. **Показатель асимметрии в тесте «сужающаяся дорожка» на разных участках через 4 (а), 7 (б) сут после ОСМА.**

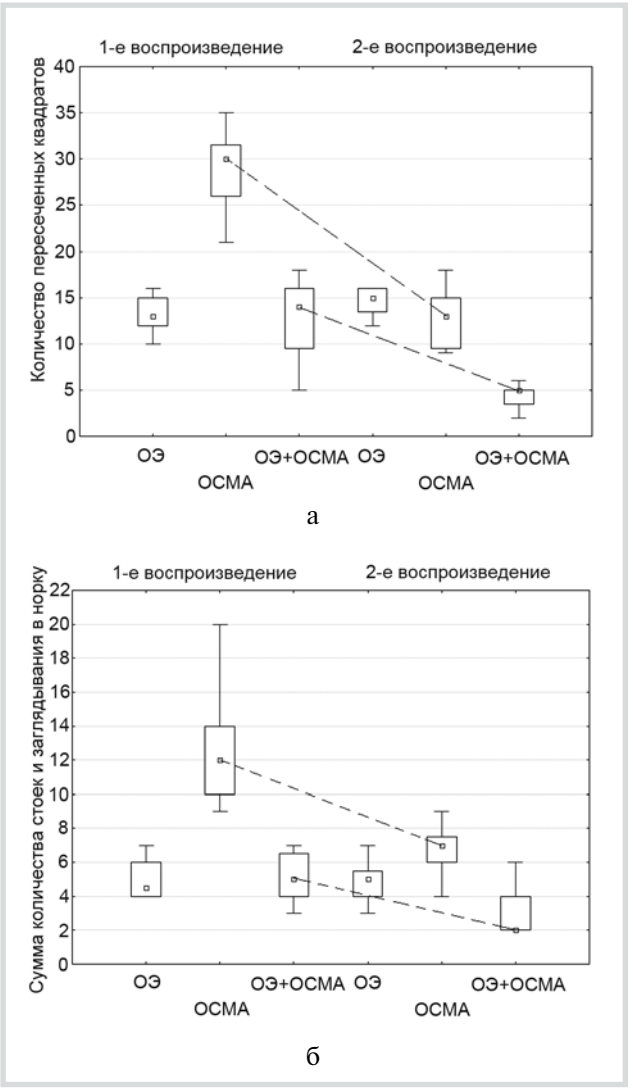

Рис. 3. **Двигательная (а) и ориентировочно-исследовательская (б) активность животных в «открытом поле» на различных этапах тестирования.**

ния через 4 сут после ОСМА, что свидетельствовало о более выраженном нарастании моторных нарушений у животных этой группы к 7-м суткам после нанесения повреждения **(см. рис. 2)**.

Таким образом, у животных на фоне недостаточности половых гормонов ишемия головного мозга развивалась более тяжело, что выражалось в статистически значимом отличии баллов неврологического дефицита и моторных нарушений по сравнению с животными с сохранной репродуктивной системой. Эти нарушения наиболее выражены через 7 сут после проведения ОСМА.

Поведенческий дефицит

Профиль поведенческой активности животных является маркером нарушений функционирования ЦНС в результате ее повреждения [13]. На этапе обучения у всех животных отсутствовали какие-либо хирургические вмешательства, поэтому их показатели не различались и не показаны на **рис. 3**.

На этапе 1-го воспроизведения у животных в группах ОЭ и ОЭ+ОСМА наблюдалось снижение как поведенческой, так и ориентировочно-исследовательской активности в тесте «открытое поле». При 2-м воспроизведении теста «открытое поле» после моделирования ОСМА отмечалось двукратное снижение двигательной активности у животных в группе ОСМА и трехкратное — в группе ОЭ+ОСМА. Ориентировочно-исследовательская активность животных снижалась только в 1,5 раза в группе ОСМА, а в группе ОЭ+ОСМА незначительно, так как исходно этот показатель был низким **(см. рис. 3)**. Таким образом, стоит отметить, что у животных с сочетанной патологией наблюдалось более выраженное снижение двигательной активности, чем в случае моделирования только ОЭ или ОСМА.

***Таблица 3*. Поведение животных в тестах «условная реакция пассивного избегания» и «экстраполяционное избавление»**

Группа	Латентный период входа в темный отсек		Латентный период подныривания	
	1-е воспроизведение	2-е воспроизведение	1-е воспроизведение	2-е воспроизведение
ЛО	180 [167,8; 180]	180 [180; 180]	13,5 [12; 17]	19 [13,8; 25,8]
ОЭ	135 [131,3; 145,8]	168 [164,8; 179,3]	106 [66,5; 121,5]	62 [55; 75]
ОСМА	174 [160,8; 180]	40 [37; 45]	15 [12,8; 17,3]	123 [107; 149,8]
ОЭ+ОСМА	133 [122,4; 150,2]	16 [12,3; 23,5]	87,5 [57,3; 114,8]	161 [142,5; 180]

Мнестический дефицит

У животных с недостаточностью половых гормонов и ОСМА наблюдались выраженные нарушения мнестической функции **(табл. 3)**. На этапе 1-го воспроизведения навыка отмечалось некоторое снижение латентного периода входа в отсек животными и повышение латентного периода подныривания животных с ОЭ. Далее, после моделирования ОСМА, на этапе 2-го воспроизведения отмечался очень короткий латентный период входа в темный отсек и большой латентный период подныривания в группах животных с ОСМА. Однако у животных с ОСМА и недостаточностью половых гормонов мнестические нарушения были более выражены, чем в группах животных только с ОСМА или ОЭ.

Таким образом, фокальная ишемия головного мозга вызывала амнестическое действие на животных, которое значительно усиливалось на фоне ОЭ.

Обсуждение

Известно, что недостаточность эстрогенов ведет к формированию ЭД и росту вероятности развития заболеваний сердечно-сосудистой системы [1]. Можно предположить, что недостаточность эстрогенов может являться фактором, отягощающим течение и прогноз острых нарушений мозгового кровообращения, так как ауторегуляция церебрального кровообращения зависит от структурно-функциональной целостности эндотелиального слоя и играет важнейшую роль в компенсации патологических процессов при ишемическом повреждении головного мозга [1, 5].

В настоящем исследовании было показано, что мозговой кровоток в группе овариэктомированных животных с ОСМА был снижен на 20% по сравнению с животными без недостаточности эстрогенов. При этом изменения мозгового кровотока были менее выражены при введении модификаторов синтеза NO у животных с ОСМА и недостаточностью половых гормонов, чем у самок только с ОСМА или с ОЭ. Известно, что ЭД оказывает прямое повреждающее воздействие на функциональность сосудистой стенки и ауторегуляцию мозгового кровообращения [3], что и было подтверждено в настоящем исследовании.

Также был проведен анализ показателей неврологического, моторного, локомоторного и мнестического дефицитов на различных этапах моделирования ОЭ и ОСМА и их сочетания с целью выявления выраженности эффекта каждого из них. Оценка общих моторных нарушений конечностей по шкале Combs не выявила статистически значимой суммации эффектов ЭД и фокальной ишемии, что, очевидно, было связано с довольно широким разбросом показателей животных на балльной шкале в группе ОЭ+ОСМА. Однако результаты оценки асимметрического моторного дефицита по шкале Garcia показали существенное влияние ОЭ на последствие фокальной ишемии. Так, через 7 сут после ОСМА медиана баллов по этой шкале составила 6,0, что свидетельствовало о наличии выраженной асимметрии моторики конечностей (p<0,05) **(см. рис. 1, б)**.

Стоит отметить, что с 1-х по 7-е сутки от момента повреждения наблюдалось постепенное повышение баллов и соответственно снижение моторного дефицита по обеим шкалам в группе животных с фокальной ишемией, что отражает динамику постепенного восстановления функций. ЭД, предшествующая фокальной ишемии, может существенно усиливать ее повреждающее действие и/или снижать компенсаторные и репаративные возможности организма. Так, в настоящей работе было показано, что в группе ОЭ+ОСМА начальные проявления инсульта были более выражены, чем в группе ОСМА, но что более важно, не наблюдалось постепенного регресса проявлений ишемии с течением времени.

Тест «сужающаяся дорожка» **(см. рис. 2)** выявил тенденцию нарастания дисфункции моторной системы в интервале от 1 до 7 сут после ОСМА, однако эффект увеличения проявлений двух патологий был выявлен только на 7-е сутки после ОСМА, где показатели групп ОСМА и ОЭ+ОСМА статистически значимо различались. При этом величина этих различий увеличивалась при сужении дорожки, т.е. с усложнением задачи для животных.

В тесте «открытое поле» двигательная активность животных была более подвержена снижению при воздействии недостаточности половых гормонов при ОЭ и фокальной ишемии. Так, на **рис. 3, а** видно, что двигательная активность всех животных

из группы ОЭ+ОСМА была значительно снижена. При этом ориентировочно-исследовательская активность существенно не различалась в группах животных с одним или комбинированным повреждением **(см. рис. 3, б)**.

В тесте «условная реакция пассивного избегания» отмечены в 2 раза более выраженные нарушения когнитивной функции у животных с ОЭ и ОСМА по сравнению с группой ОСМА. Показатели животных в тесте «экстраполяционное избавление» не имели статистически значимой разницы.

Известно, что большинство инсультов у женщин протекает в постменопаузальном периоде, когда ведущим звеном цепи патологического процесса при сердечно-сосудистых заболеваниях является ЭД [1]. В настоящем исследовании было показано, что ЭД, вызванная ОЭ, оказывала выраженное патологическое влияние на развитие и последствия фокальной ишемии у самок крыс. Это воздействие проявлялось в более выраженном формировании у животных асимметрических моторных нарушений, а также нарушений локомоторной и мнестической активности, связанной с воспроизведением памятного следа в условиях менее аверсивной среды. Было также показано значительное снижение церебральной гемодинамики в условиях ЭД у животных с фокальной ишемией, что, по-видимому, являлось ключевым звеном в развитии вышеуказанных патологических процессов.

Мозговой кровоток в проекции среднемозговой артерии на стороне окклюзии у овариэктомированных животных через 7 сут после ОСМА был снижен в 2 раза по сравнению с животными, не подвергшимися ОЭ. При этом у овариэктомированных животных наблюдалась в 2—3 раза менее выраженная реакция мозгового кровотока при введении ацетилхолина и нитро-L-аргинина, что говорит о развитии у них более тяжелой ЭД.

ОСМА на фоне ОЭ приводит к формированию в 2 раза более выраженного неврологического дефицита, моторной асимметрии и снижению поведенческой активности животных в 3 раза в тесте «открытое поле», снижению памяти в 1,5 раза в тесте «условная реакция пассивного избегания» и в 2 раза в тесте «экстраполяционное избавление» по сравнению с моделированием ишемии на фоне нормального гормонального фона через 7 сут после ОСМА.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Stice J, Lee J, Pechenino A, Knowlton A. Estrogen, aging and the cardiovascular system. Future *Cardiology.* 2009;5(1):93-103. https://doi.org/10.2217/14796678.5.1.93
2. Sakuma I, Liu M, Sato A, Hayashi T, Iguchi A, Kitabatake A, Hattori Y. Endothelium-dependent hyperpolarization and relaxation in mesenteric arteries of middle-aged rats: influence of oestrogen. *British Journal of Pharmacology*. 2002;135(1):48-54. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704444
3. Madden J. Role of the vascular endothelium and plaque in acute ischemic stroke. *Neurology.* 2012;79(Issue 13,Suppl.1):S58-S62. https://doi.org/10.1212/wnl.0b013e3182695836
4. Raval A, Borges-Garcia R, Javier Moreno W, Perez-Pinzon M, Bramlett H. Periodic 17β-Estradiol Pretreatment Protects Rat Brain from Cerebral Ischemic Damage via Estrogen Receptor-β. *PLoS ONE.* 2013;8(4):e60716. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060716
5. Rusa R, Alkayed NJ, Crain BJ, Traystman RJ, Kimes AS, London ED, Klaus JA, Hurn PD, Iadecola C. 17-Estradiol Reduces Stroke Injury in Estrogen-Deficient Female Animals Editorial Comment. *Stroke.* 1999;30(8):1665-1670. https://doi.org/10.1161/01.str.30.8.1665
6. Stice J, Eiserich J, Knowlton A. Role of Aging Versus the Loss of Estrogens in the Reduction in Vascular Function in Female Rats. *Endocrinology.* 2009;150(1):212-219. https://doi.org/10.1210/en.2008-0640
7. Longa E, Weinstein P, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke.* 1989;20(1):84-91. https://doi.org/10.1161/01.str.20.1.84
8. Combs D'Alecy L. Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-butanediol. *Stroke*. 1987;18(2):503-511. https://doi.org/10.1161/01.str.18.2.503
9. Garcia J, Wagner S, Liu K, Hu X. Neurological Deficit and Extent of Neuronal Necrosis Attributable to Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats: Statistical Validation. *Stroke.* 1995;26(4):627-635. https://doi.org/10.1161/01.str.26.4.627
10. Montoya C, Campbell-Hope L, Pemberton K, Dunnett S. The «staircase test»: a measure of independent forelimb reaching and grasping abilities in rats. *Journal of Neuroscience Methods.* 1991;36(2-3):219-228. https://doi.org/10.1016/0165-0270(91)90048-5
11. Тюренков И.Н., Воронков А.В. Методический подход к оценке эндотелиальной дисфункции в эксперименте, *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2008;71(1):49-51. [Tyurenkov IN, Voronkov AV. A new methodological approacht ot heexperimental estimation of endothelial dysfunction. *Eksperimental'naia I klinicheskaia farmakologiia.* 2008;71(1):49-51. (In Russ.)].
12. Мамаев А.Н. *Основы медицинской статистики.* М: Практическая медицина; 2011. [Mamaev AN. *Fundamentals of medical statistics.* Moscow: Publisher Practical medicine; 2011. (In Russ.)].
13. Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая. М.: Издательство Гриф и К; 2012. [Mironov AN. *The guidelines for preclinical studies of pharmaceuticals.* Part one. Moscow: Publisher Grif and K; 2012. (In Russ.)].