

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ИЗМЕНЕНИЯ СОМАТОСЕНСОРНЫХ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ У КРЫС, ПЕРЕНЁСШИХ ОБРАТИМУЮ ЦЕРЕБРАЛЬНУЮ ИШЕМИЮ

Сысоев Ю.И.^{1,2,3,4},
Приходько В.А.^{1,4},
Титович И.А.¹,
Карев В.Е.⁵,
Оковитый С.В.^{1,4}

¹ ФГБОУ ВО

«Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет»
Минздрава России (197376,
г. Санкт-Петербург, ул. Профессора
Попова, 4, Россия)

² Институт трансляционной
биомедицины, ФГБОУ ВО

«Санкт-Петербургский государственный
университет» (199034, г. Санкт-Петербург,
Университетская наб., 7-9, пом. 1050,
Россия)

³ ФГБУ «Институт физиологии

им. И.П. Павлова» РАН (199034,
г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6,
Россия)

⁴ ФГБУН «Институт мозга человека

им. Н.П. Бехтеревой» РАН (197376,
г. Санкт-Петербург, ул. Академика
Павлова, 12А, Россия)

⁵ ФГБУ «Детский научно-клинический

центр инфекционных болезней
Федерального медико-биологического
агентства» (197022, г. Санкт-Петербург,
ул. Профессора Попова, 9, Россия)

Автор, ответственный за переписку:

Вероника Александровна

Приходько,

e-mail: veronika.prihodko@

pharminnotech.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Церебральная ишемия, индуцируемая путём временной окклюзии среднелобной артерии, является одной из наиболее популярных моделей ишемического инсульта для оценки нейротекторной активности новых лекарственных средств. Возможность использования нейрофизиологических методов (электроэнцефалографии, электрокортикографии, регистрации вызванных потенциалов и др.) для оценки эффективности новых фармакотерапевтических методик с использованием вышеуказанной модели представляет большой интерес для биомедицинских исследований.

Цель исследования: выявление характерных изменений соматосенсорных вызванных потенциалов, возникающих у крыс при церебральной ишемии, вызванной окклюзией среднелобной артерии.

Методы. Эксперименты были выполнены на 18 белых беспородных крысах-самцах, разделённых на три группы по 6 особей: 1) контроль (условно здоровые животные); 2) ИШ-30 (30-минутная окклюзия среднелобной артерии); 3) ИШ-45 (45-минутная окклюзия). На 7-е сутки после операции проводили регистрацию ответов коры при токовой стимуляции n. ischiadicus поочередно с правой и левой стороны. Для пиков N1, P2, N2, P3 и N3 кривых ответов измеряли амплитуды и латентность, а также амплитуды и длительность межпиковых интервалов. Для оценки связи между длительностью ишемии и значениями оцениваемых показателей рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена, для оценки тесноты связи между признаками использовали шкалу Чеддока.

Результаты. У крыс, перенёсших церебральную ишемию, было показано снижение амплитуд отдельных пиков ипси- и контралатеральных соматосенсорных потенциалов, вызванных стимуляцией n. ischiadicus. Для ишемизированного полушария было характерно снижение амплитуды пиков P2 и N3, межпикового интервала P3–N3 исилатеральных ответов, амплитуды пика P3 и длительности межпикового интервала N2–P3 контралатеральных ответов.

Заключение. Полученные данные указывают на то, что метод регистрации и анализа соматосенсорных вызванных потенциалов может быть использован как инструмент оценки функционального состояния проводящих путей головного мозга у крыс, перенёсших церебральную ишемию.

Ключевые слова: ишемический инсульт, церебральная ишемия, электроэнцефалография, электрокортикография, соматосенсорные вызванные потенциалы, крысы

Для цитирования: Сысоев Ю.И., Приходько В.А., Титович И.А., Карев В.Е., Оковитый С.В. Изменения соматосенсорных вызванных потенциалов у крыс, перенёсших обратимую церебральную ишемию. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(4): 190-200. doi: 10.29413/ABS.2022-7.4.22

Статья получена: 16.03.2022

Статья принята: 05.07.2022

Статья опубликована: 06.09.2022

CHANGES IN SOMATOSENSORY EVOKED POTENTIALS IN RATS FOLLOWING TRANSIENT CEREBRAL ISCHEMIA

Sysoev Yu.I.^{1, 2, 3, 4,}
 Prihodko V.A.^{1, 4,}
 Titovich I.A.^{1,}
 Karev V.E.^{5,}
 Okovityy S.V.^{1, 4}

¹ Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Professora Popova str. 4, Saint Petersburg 197376, Russian Federation)

² Institute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University (Universitetskaya embankment 7-9, unit 1050, Saint Petersburg 199034, Russian Federation)

³ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences (Makarova embankment 6, Saint Petersburg 199034, Russian Federation)

⁴ N.P. Bekhtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences (Akademika Pavlova str. 12A, Saint Petersburg 197376, Russian Federation)

⁵ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency (Professora Popova str. 9, Saint Petersburg 197022, Russian Federation)

Corresponding author:
Veronika A. Prihodko,
 e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

ABSTRACT

Background. Cerebral ischemia induced by transient middle cerebral artery occlusion is one of the most popular ischemic stroke models used to evaluate drug candidates with neuroprotective properties. The possibilities of combining this model with neurophysiological techniques (e.g., electroencephalography, electrocorticography, evoked potential registration, etc.) to assess the effectiveness of novel pharmacotherapeutic strategies appear to be of great interest to current biomedical research.

The aim. Identifying specific changes in somatosensory evoked potentials occurring after cerebral ischemia induced by middle cerebral artery occlusion in rats.

Materials and methods. A total number of 18 white outbred male rats were randomized into 3 groups by 6 animals in each: 1) control (presumably healthy animals); 2) ischemia-30 (30-minute middle cerebral artery occlusion); 3) ischemia-45 (45-minute occlusion). At post-surgery day 7, cortical responses to sequential electrical stimulation of left and right n. ischiadicus were registered. N1, P2, N2, P3, and N3 peak latencies and amplitudes, peak-to-peak interval durations and amplitudes were calculated. Spearman's rank correlation coefficients were used to assess the relationship between ischemia duration and evoked potential parameters, and the Chaddock scale was used to qualitatively evaluate the strength of correlations.

Results. The rats subjected to cerebral ischemia demonstrated a decrease in some of the peak amplitudes of the ipsi- and contralateral somatosensory potentials evoked by n. ischiadicus stimulation. In the injured hemisphere, decreased P2 and N3 peak and P3–N3 interval amplitudes were registered ipsilaterally, and decreased P3 peak amplitudes and N2–P3 interval durations were observed contralaterally.

Conclusions. The obtained data suggest that somatosensory evoked potential registration and analysis can be used to evaluate the functional state of central nerve tracts in rats subjected to cerebral ischemia.

Key words: ischemic stroke, brain ischemia, electroencephalography, electrocorticography, evoked potentials, somatosensory, rats

Received: 16.03.2022
 Accepted: 05.07.2022
 Published: 06.09.2022

For citation: Sysoev Yu.I., Prihodko V.A., Titovich I.A., Karev V.E., Okovityy S.V. Changes in somatosensory evoked potentials in rats following transient cerebral ischemia. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(4): 190-200. doi: 10.29413/ABS.2022-7.4.22

ОБОСНОВАНИЕ

Регистрация и анализ соматосенсорных вызванных потенциалов (ССВП) является широко используемым в клинической практике диагностическим методом для оценки ответов головного и спинного мозга на стимуляцию волокон периферической нервной системы. Этот вид диагностики позволяет судить о функциональном состоянии проводящих путей спинного мозга [1]; кроме того, он служит способом оценки церебральных нарушений соматосенсорной проводимости [2].

В нашей предыдущей работе [3] были выявлены характерные изменения ответов первичной и вторичной двигательной коры при стимуляции *n. ischiadicus*, *n. medianus* и *n. trigeminalis* у крыс с открытой проникающей черепно-мозговой травмой. Позже, в другом исследовании [4] было показано, что курсовое недельное введение агониста центральных α_2 -адренорецепторов мафедина таким животным приводит к модуляции генерируемых ответов, приближая значения латентностей поздних ипсилатеральных ответов к значениям здоровых животных. Таким образом, был сделан вывод, что регистрация и анализ ССВП у крыс с черепно-мозговой травмой может быть полезным инструментом для более детального изучения фармакодинамических особенностей действия средств с церебропротекторным действием.

В настоящее время публикуется большое число работ по изучению нейропротекторной активности новых лекарственных средств с использованием моделей ишемического инсульта у грызунов. Одной из наиболее популярных моделей для изучения нейропротекторной активности новых фармакологических агентов является временная окклюзия среднемозговой артерии (СМА) [5–7]. Традиционными подходами к оценке эффективности нейропротекторной фармакотерапии являются поведенческие и функциональные тесты [8, 9], а также биохимические [10] и гистологические [11] методы анализа. Адаптация электрофизиологических методов (электроэнцефалографии, электрокортикографии, регистрации вызванных потенциалов и др.) для таких исследований может расширить возможности изучения фармакодинамических особенностей новых нейропротекторных средств. Можно предположить, что сосудистые повреждения головного мозга у крыс будут так же, как и в случае черепно-мозговой травмы, сопровождаться изменениями ответов коры на соматосенсорную стимуляцию. В связи с вышесказанным, **целью данной работы** стало выявление характерных изменений ССВП, возникающих у крыс при церебральной ишемии, вызванной окклюзией СМА.

МЕТОДЫ

Исследование проводили в соответствии с принципами Базельской декларации, Приказом Минздрава РФ

от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и рекомендациями биоэтической комиссии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Эксперименты были выполнены на 18 белых беспородных крысах-самцах, полученных из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская область, Россия). Перед началом исследований все животные прошли карантин в течение 14 суток. Крыс содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе, со свободным доступом к воде. Непосредственно перед началом исследования животных рандомизировали методом случайных чисел на три группы по 6 особей: 1) контроль (условно здоровые животные); 2) ИШ-30 (животные, перенёсшие окклюзию СМА в течение 30 минут); 3) ИШ-45 (животные, перенёсшие окклюзию СМА в течение 45 минут).

Регистрирующие и референтный кортикографические электроды изготавливали из нихромовой проволоки диаметром 0,5 мм, заземляющий электрод – из проволоки диаметром 0,16 мм. Поверхность электродов изолировали с помощью термоусадочной трубки так, чтобы длина неизолированной регистрирующей части составляла ≈ 1 мм. Все электроды объединяли в гнездо на кабель BLS-8 1 \times 8 с шагом контактов 2,54 мм (Connfly Electronic Co. Ltd., КНР) [4].

Перед имплантацией электродов крыс наркотизировали хлоралгидратом (MilliporeSigma, США; 400 мг/кг, внутривенно). После удаления мышечно-фасциального слоя, надкостницы и коагуляции кровотока участков на поверхности черепа с помощью бормашины просверливали отверстия для установки электродов и фиксирующих винтов. Координаты расположения отверстий определяли с использованием стереотаксического атласа мозга крысы [12]. Электроды FP1 и FP2 располагали в области вторичной двигательной коры, иннервирующей передние конечности (AP = +2,0; ML = 1,5; DV = 1,0), электроды C3 и C4 – в области первичной двигательной коры, иннервирующей задние конечности (AP = -1,0; ML = 2,0; DV = 1,0). Референтный электрод устанавливали в каудальную часть носовой кости, заземляющий – подкожно в области шеи.

Далее животным контрольной группы в подготовленные отверстия имплантировали кортикографические электроды и фиксировали с помощью винтов; животным групп ИШ-30 и ИШ-45 имплантацию проводили после моделирования ишемического инсульта. Церебральную ишемию у крыс моделировали методом окклюзии СМА [13]. Перекрытие кровотока сохраняли в течение 30 и 45 минут (группы ИШ-30 и ИШ-45 соответственно), после чего окклюдер извлекали из сосуда, восстанавливая кровоснабжение в бассейне СМА. Во время операции температуру тела животных поддерживали на уровне $37 \pm 0,5$ °C с помощью подогреваемого коврика.

Дополнительную поверхностную фиксацию имплантов осуществляли с помощью стоматологической пластмассы Villacryl S (Zhermack SpA, Италия), после чего ушивали разрез и проводили антисептическую обработку операционного поля и швов [4].

Кортикографическое исследование проводили на 7-е сутки после операции с помощью 8-канального энцефалографа Нейрон-Спектр-1 (ООО «Нейрософт», Россия), предварительно наркотизируя животных хлоралгидратом (400 мг/кг внутривенно). Осуществляли электростимуляцию седалищного нерва *n. ischiadicus* поочередно с правой и левой стороны с помощью токового стимулятора Нейро-МВП (ООО «Нейрософт», Россия) (сила тока – 2 мА, прямоугольная волна, длительность стимула – 0,1 мс, частота – 1 Гц). Выбор параметров стимуляции, достаточных для вызова выраженных моторных ответов, был произведён на основании результатов предыдущих исследований [3, 4].

Регистрацию ответов коры при стимуляции седалищного нерва осуществляли в отведениях С3 и С4, соответствующих области первичной двигательной коры. Анализ кривых ССВП проводили с помощью программы Нейрон-Спектр-ДВП.NET 1.6.10.8 (ООО «Нейрософт», Россия). Длительность эпохи анализа составляла 350 мс, количество усреднений – 30. Для стимулируемых *n. ischiadicus* справа и слева измеряли амплитуды и латентность пиков N1, P2, N2, P3 и N3, а также амплитуды и длительность межпиковых интервалов [3].

После регистрации ССВП крыс эвтаназировали в атмосфере углекислого газа в боксе для эвтаназии (Bioscape/Zoonlab GmbH, Германия). Головной мозг извлекали из черепной коробки и фиксировали 10%-м нейтральным формалином в течение 24 ч, затем рассекали в коронарной плоскости через области имплантации электродов. Срезы ткани мозга толщиной 0,2–0,3 см подвергали гистологической проводке, пропитыванию и заливке в парафин по общепринятой мето-

дике. Из парафиновых блоков при помощи ротационного микротомы HM340 (Thermo Fisher Scientific, США) изготавливали срезы ткани толщиной 4 мкм, размещали на предметных стёклах, окрашивали гематоксилином и эозином, после чего обезжизивали и заключали под покровные стекла. Гистологические препараты подвергали тотальному сканированию в режиме светлого поля с помощью автоматического цифрового сканирующего микроскопа Pannogamic MIDI (3DHISTECH Kft., Венгрия).

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Prism 7.00 (GraphPad Software Inc., США). Для оценки связи между длительностью ишемии и значениями показателей ССВП рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. В качестве переменных «X» нами были взяты условные степени тяжести ишемии «0» – отсутствие ишемии (контрольная группа), «1» – 30-минутная ишемия, «2» – 45-минутная ишемия. В качестве зависимых переменных «Y» – значения того или иного параметра ССВП. Для оценки тесноты связи между признаками использовали шкалу Чеддока, рассматривая значения коэффициента r менее 0,3 как слабую, значения в диапазоне 0,3–0,5 – умеренную, 0,5–0,7 – заметную, 0,7–0,9 – высокую, а значения от 0,9 – очень высокую степень тесноты связи.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При электрической стимуляции *n. ischiadicus* у здоровых крыс кривые ССВП двигательной коры кон-

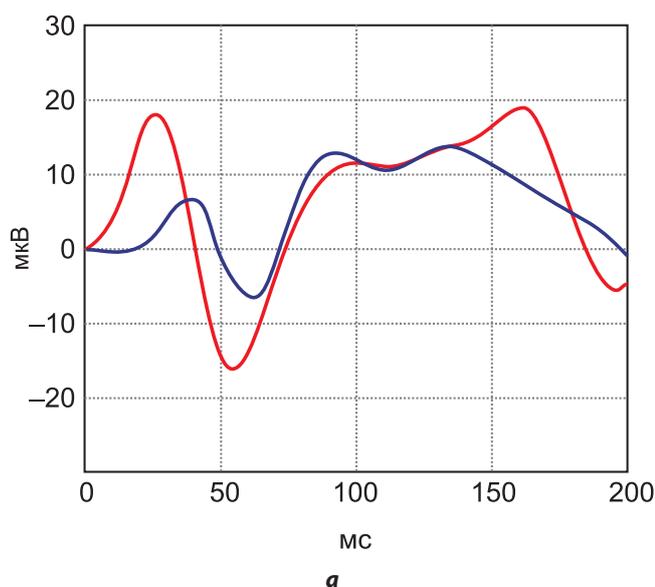


РИС. 1.
Примеры ответов первичной двигательной коры на электрическую стимуляцию правого (а) и левого (б) седалищных нервов. Красный цвет – ответы в области электрода С3 (левое полушарие); синий цвет – ответы в области электрода С4 (правое полушарие)

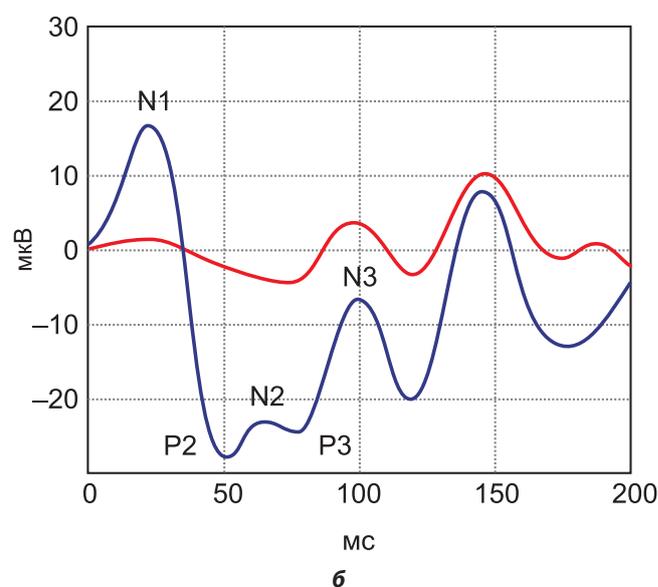


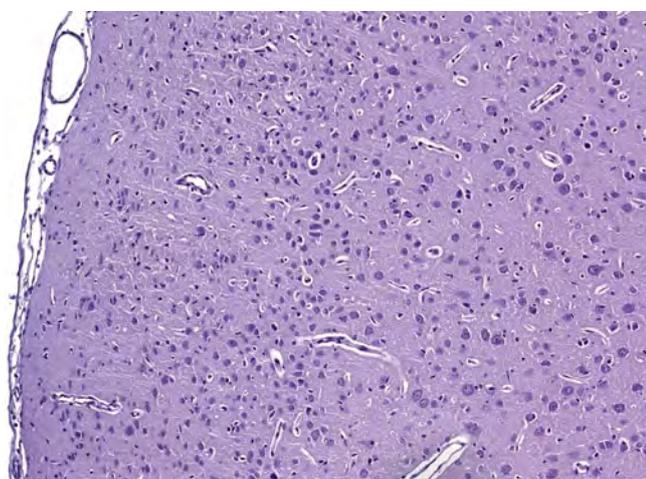
FIG. 1.
Examples of primary motor cortex responses evoked by electrical stimulation of the right (а) and (б) *n. ischiadicus*. Responses at C3 level (left hemisphere) are shown in red; responses at C4 level (right hemisphere), in blue

тралатерального полушария включали в себя пики N1 ($27,7 \pm 2,1$ мс; $96,8 \pm 28,1$ мкВ), P2 ($53,0 \pm 3,5$ мс; $143,5 \pm 18,5$ мкВ), N2 ($81,0 \pm 5,1$ мс; $90,1 \pm 24,1$ мкВ), P3 ($101,1 \pm 4,6$ мс; $54,7 \pm 18,6$ мкВ) и N3 ($129,0 \pm 3,4$ мс; $75,7 \pm 19,9$ мкВ).

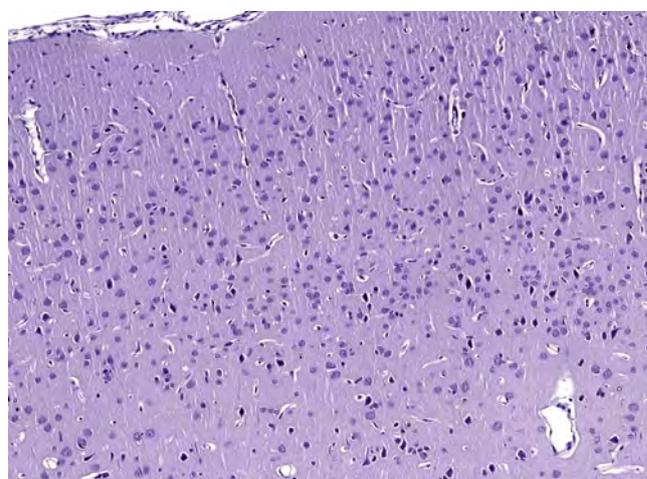
Ипсилатеральные ответы имели аналогичные компоненты: N1 ($33,0 \pm 2,6$ мс; $63,3 \pm 16,4$ мкВ), P2 ($53,6 \pm 3,3$ мс; $91,8 \pm 12,8$ мкВ), N2 ($79,6 \pm 2,5$ мс; $85,8 \pm 22,4$ мкВ), P3 ($102,9 \pm 2,5$ мс; $84,8 \pm 24,1$ мкВ) и N3 ($130,4 \pm 3,5$ мс; $65,2 \pm 13,6$ мкВ). Как правило, ранние пики N1 и P2 ипсилатеральных ответов имели меньшую амплитуду по сравнению с контралатеральными, а поздние волны N2, P3 и N3 не отличались между полушариями (рис. 1).

Гистоморфологический анализ показал наличие у всех животных из группы ИШ-45 крупного очага ише-

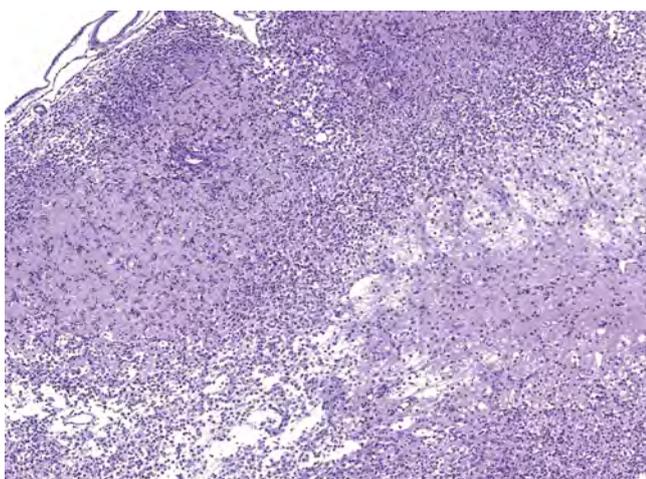
мического повреждения головного мозга, широко захватывающего область соматосенсорной коры, распространяющегося в глубокие отделы подкорковых узлов основания вплоть до субвентрикулярных отделов (рис. 2в). Очаг повреждения у крыс, перенёвших 45-минутную ишемию, характеризовался обширными фокусами некроза мозговой ткани с явлениями текущей маляции и распространённой перифокальной гистиоцитарной (преимущественно за счёт множественных клеточных элементов микроглии) реакцией и распространённой инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами. Окружающее вещество мозга характеризовалось распространённым неравномерно выраженным периваскулярным и перицеллюлярным отёком и дистрофическими изменениями нервных клеток разной степени выражен-



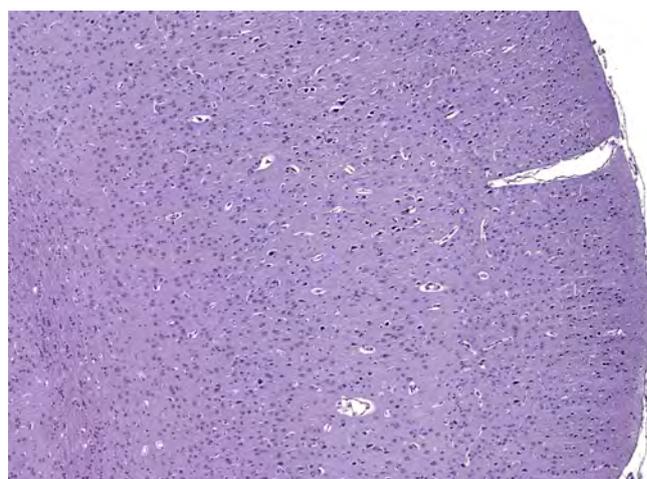
а



б



в



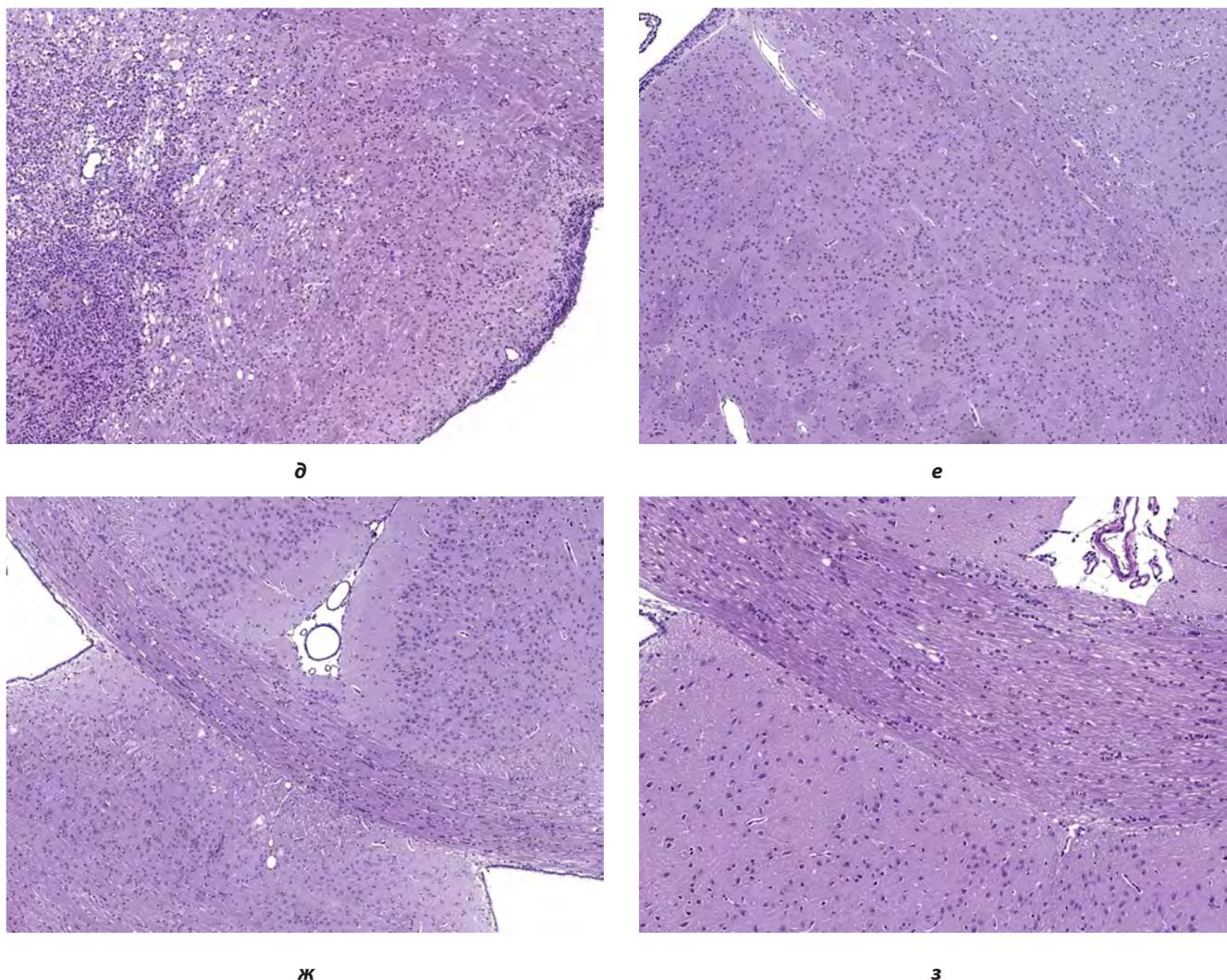
г

РИС. 2.

Гистологические изменения различных отделов головного мозга у экспериментальных животных: **а, б** – область моторной коры (**а** – правое полушарие; **б** – левое полушарие) у животного из группы ИШ-45; **в, г** – область соматосенсорной коры (**в** – правое полушарие; **г** – левое полушарие) у животного из группы ИШ-45. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$ (**а, б**), $\times 50$ (**в, г**)

FIG. 2.

Histomorphological changes in different structures of the brain observed in the experimental animals: **а, б** – motor cortex (**а** – right hemisphere; **б** – left hemisphere) in an ISch45 animal; **в, г** – somatosensory cortex (**в** – right hemisphere; **г** – left hemisphere) in an ISch45 animal. Hematoxylin and eosin stain, magnification $\times 100$ (**а, б**), $\times 50$ (**в, г**)

**РИС. 2. (продолжение)**

Гистологические изменения различных отделов головного мозга у экспериментальных животных: **д, е** – область стриатума (**д** – правое полушарие; **е** – левое полушарие) у животного из группы ИШ-45; **ж, з** – мозолистое тело (**ж** – у животного из группы ИШ-45; **з** – у животного из контрольной группы). Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$ (**з**), $\times 50$ (**д, е, ж**)

FIG. 2. (continued)

Histomorphological changes in different structures of the brain observed in the experimental animals: **д, е** – striatum (**д** – right hemisphere; **е** – left hemisphere); **ж, з** – corpus callosum (**ж** – in an ISch45 animal; **з** – in a control animal). Hematoxylin and eosin stain, magnification $\times 100$ (**з**), $\times 50$ (**д, е, ж**)

ности. При этом область моторной коры (рис. 2а) и мозолистого тела (рис. 2ж) у подопытных животных оставалась интактной, а имеющиеся патологические изменения не отличались от изменений в контралатеральном полушарии у животных из опытных и контрольной групп, поскольку были обусловлены закономерными типовыми патологическими процессами, развивающимися в танатогенезе.

Церебральная ишемия, индуцированная 30- или 45-минутной окклюзией СМА, вызывала у крыс изменения ипси- и контралатеральных ССВП (табл. 1, 2). У таких животных снижались амплитуды пиков P2 и N3, а также межпикового интервала P3–N3 ипсилатеральных ответов ишемизированного полушария, возникающих при стимуляции правого *n. ischiadicus*. Также у крыс, перенёсших церебральную ишемию, была ниже ампли-

туда пика P3 и короче длительность межпикового интервала N2–P3 контралатеральных ответов при стимуляции левого *n. ischiadicus*. Дополнительно была отмечена положительная корреляция между длительностью окклюзии СМА и соотношением амплитуд пика P2 контралатеральных и ипсилатеральных ответов при стимуляции левого *n. ischiadicus* (табл. 2). Однако эта зависимость, скорее всего, является следствием снижения амплитуды данного пика ипсилатеральных ответов, о котором было сказано выше.

При сравнении частоты встречаемости пиков N1, P2, N2, P3 и N3 ССВП у контрольных и ишемизированных крыс не было выявлено статистически значимых различий между группами (табл. 3). Стоит отметить, что отдельные волны могли отсутствовать в том числе и у условно здоровых животных (табл. 3).

ТАБЛИЦА 1
ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ССВП
ЖИВОТНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГРУПП, ВЗЯТЫЕ
В ДАЛЬНЕЙШИЙ КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ

TABLE 1
INDIVIDUAL VALUES OF THE SSEP PARAMETERS
OF THE EXPERIMENTAL ANIMALS, TAKEN FOR FURTHER
CORRELATION ANALYSIS

№ крысы	P2 ампл. С4 ПСН, мкВ	N3 ампл. С4 ПСН, мкВ	P3–N3 ампл. С4 ПСН, мкВ	P3 ампл. С4 ЛСН, мкВ	N2–P3 лат. С4 ПСН, мс	P2 ампл. С3/С4 ПСН
Контроль 1	86,15	24,13	–	–	–	2,20
Контроль 2	117,36	116,39	116,71	46,47	24	1,13
Контроль 3	173,66	34,55	35,14	60,19	29	0,79
Контроль 4	52,19	–	–	–	–	1,45
Контроль 5	71,1	158,64	159,67	150,82	34	0,64
Контроль 6	117,75	66,99	70,4	77,13	30	2,42
ИШ 30_1	7,02	11,29	11,29	7,35	45	7,02
ИШ 30_2	85,45	39,55	39,57	48,8	26	3,31
ИШ 30_3	49,88	75,45	75,52	2,87	17	1,91
ИШ 30_4	140,09	29,51	29,86	–	–	0,94
ИШ 30_5	27,14	–	–	–	–	5,58
ИШ 45_1	–	2,63	2,99	–	–	–
ИШ 45_2	15,06	60,5	60,68	5,93	18	5,27
ИШ 45_3	26,42	–	–	14,05	21	4,52
ИШ 45_4	80,39	14,25	14,25	15,66	16	4,95
ИШ 45_5	11,22	31,99	–	–	–	6,75
ИШ 45_6	47,62	10,26	–	–	–	3,28

Примечание. ампл. – амплитуда; лат. – латентность; ПСН – правый седалищный нерв; ЛСН – левый седалищный нерв.

ТАБЛИЦА 2
ЗНАЧЕНИЯ КОЭФФИЦИЕНТА РАНГОВОЙ КОРРЕЛЯЦИИ
СПИРМЕНА (R) ПРИ ОЦЕНКЕ СВЯЗИ ДЛИТЕЛЬНОСТИ
ИШЕМИИ СО ЗНАЧЕНИЯМИ ПАРАМЕТРОВ
СОМАТОСЕНСОРНЫХ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ

TABLE 2
SPEARMAN'S RANK CORRELATION COEFFICIENT VALUES
FOR THE RELATIONSHIP BETWEEN ISCHEMIA DURATION
AND SOMATOSENSORY EVOKED POTENTIAL PARAMETERS

Параметры ССВП	Число пар признака	r	p	Теснота связи по шкале Чеддока
Амплитуда P2 (С4, ПСН)	16	–0,633	0,008	Заметная
Амплитуда N3 (С4, ПСН)	14	–0,566	0,035	Заметная
Амплитуда P3–N3 (С4, ПСН)	11	–0,621	0,041	Заметная
Амплитуда P3 (С4, ЛСН)	10	–0,706	0,022	Высокая
Латентность N2–P3 (С4, ЛСН)	10	–0,642	0,045	Заметная
Амплитуда P2 (С3/С4, ПСН)	16	0,684	0,030	Заметная

Примечание. ПСН – правый седалищный нерв; ЛСН – левый седалищный нерв.

ТАБЛИЦА 3
НАЛИЧИЕ ПИКОВ N1, P2, N2, P3 И N3 НА КРИВЫХ СОМАТОСЕНСОРНЫХ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ N. ISCHIADICUS

TABLE 3
THE PRESENCE OF N1, P2, N2, P3, AND N3 PEAKS ON THE SOMATOSENSORY EVOKED POTENTIAL CURVES FOLLOWING N. ISCHIADICUS STIMULATION

Отведения	N1			P2			N2			P3			N3		
	К	ИШ-30	ИШ-45												
ПСН															
С3	3/6	4/5	5/6	6/6	5/5	6/6	5/6	5/5	2/6	3/6	4/5	1/6	4/6	4/5	6/6
С4	3/6	2/5	3/5	6/6	5/5	5/6	6/6	3/5	5/6	5/6	4/5	3/6	5/6	4/5	5/6
ЛСН															
С3	3/6	2/5	2/5	6/6	5/5	6/6	4/6	4/5	5/6	4/6	4/5	4/6	6/6	3/5	4/6
С4	4/6	5/5	6/6	6/6	5/5	6/6	6/6	4/5	6/6	4/6	3/5	3/6	6/6	1/5	3/6

Примечание. К – контроль; ПСН – правый седалищный нерв; ЛСН – левый седалищный нерв.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании показано, что церебральная ишемия, вызванная у крыс 30- и 45-минутной окклюзией СМА, сопровождается характерными изменениями амплитуд контра- и ипсилатеральных ответов, регистрируемых в области двигательной коры ишемизированного полушария.

Снижение амплитуд контралатеральных ответов является хорошо известной особенностью ССВП при органических поражениях головного мозга. Такие изменения были неоднократно описаны для черепно-мозговой травмы [14], болезни Паркинсона [15], хореи Гентингтона [16] и других патологий. Стоит отметить, что в данной работе у крыс, перенёсших церебральную ишемию, ранние коротколатентные ответы были без изменений, а статистически значимые корреляции длительности ишемии и уменьшения амплитуды были обнаружены только для позднего пика P3. Поскольку принято считать, что длиннолатентные пики ССВП связаны в большей степени с активностью нижележащих подкорковых структур [17], полученные результаты согласуются с данными гистоморфологического анализа: у животных, перенёсших ишемию, в области моторной коры, в отличие, например, от стриатума, не было выявлено каких-либо патологических изменений.

Отдельного внимания заслуживают обнаруженные в настоящем исследовании изменения ипсилатеральных ответов. Несмотря на то, что они редко привлекают внимание исследователей и в целом не всегда выявляются при регистрации ССВП, они были продемонстрированы в рамках наших предыдущих экспериментов [4], а также другими авторами [18, 19]. На сегодняшний день их природа остаётся неизученной. Предположительно, они могут возникать вследствие: 1) вовлечения мозолистого тела, передающего нервный импульс на противоположное полушарие; 2) наличия прямых восходящих путей

от места стимуляции до ипсилатеральной коры; 3) «бифуркации» импульса в оба полушария от таламуса [20]. Продемонстрированное снижение амплитуд ипсилатеральных ответов в области ишемизированного полушария могут быть связаны с нарушениями работы вышеуказанных механизмов. Например, при анализе гистоморфологической картины очага повреждения у животных, перенёсших 45-минутную ишемию, область поражения затрагивала в том числе и мозолистое тело. Также несмотря на то, что таламус не кровоснабжается из бассейна СМА, у грызунов её перекрытие приводит к повреждениям в том числе и в таламической области. Этот феномен – так называемая транснейрональная дегенерация – возникает в течение нескольких дней или нескольких недель из-за разрыва синаптических контактов ишемизированной и неишемизированной областей [21, 22].

Несмотря на то, что у животных, перенёсших 30- и 45-минутную ишемию, практически не было изменений латентности компонентов ССВП (за исключением длительности межпикового интервала N2–P3), утверждение об изменении только амплитудной составляющей ССВП после перенесённого инсульта не является справедливым. В качестве аргумента можно привести ранее опубликованную работу, в которых авторы отмечают увеличение латентности пика N20 [23] у пациентов, перенёсших ишемический инсульт. Кроме того, сосудистые повреждения головного мозга неизбежно сопровождаются процессом демиелинизации [24], что также будет приводить к снижению проводимости и увеличению латентностей рефлекторных ответов [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе было продемонстрировано, что метод регистрации и анализа ССВП позволяет выявлять характерные функциональные изменения про-

водящих систем головного мозга у крыс, перенёвших ишемический инсульт. Следовательно, можно также предположить, что он будет пригоден для оценки фармакологического воздействия на течение патологических процессов при церебральной ишемии у крыс. Безусловно, данное исследование носило пилотный и поисковый характер, и дальнейшие эксперименты с использованием большего количества животных и большего числа временных интервалов могут позволить выявить изменения, в том числе, и латентностей, компонентов ССВП.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках проекта № 93022798 ФГБОУ ВО СПбГУ и поддержана грантом Российского научного фонда (РНФ) 22-15-00092. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбГУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26.07.2021 при финансовой поддержке Минобрнауки России.

ЛИТЕРАТУРА

- Muzyka IM, Estephan B. Somatosensory evoked potentials. *Handb Clin Neurol*. 2019; 160: 523-540. doi: 10.1016/B978-0-444-64032-1.00035-7
- Алифилова В.М., Толмачев И.В., Королева Е.С., Кучерова К.С. Соматосенсорные вызванные потенциалы в оценке эффективности моторной реабилитации у пациентов с ишемическим инсультом. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2020; 14(3): 77-81. doi: 10.25692/ACEN.2020.3.10
- Сысоев Ю.И., Крошкина К.А., Оковитый С.В. Особенности соматосенсорных вызванных потенциалов у крыс после черепно-мозговой травмы. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019; 105(6): 749-760. doi: 10.1134/S0869813919060074
- Sysoev YI, Prikhodko VA, Chernyakov RT, Idiyatullin RD, Musienko PE, Okovityi SV. Effects of alpha-2 adrenergic agonist mafedine on brain electrical activity in rats after traumatic brain injury. *Brain Sci*. 2021; 11(8): 981. doi: 10.3390/brainsci11080981
- Lopez MS, Vemuganti R. Modeling transient focal ischemic stroke in rodents by intraluminal filament method of middle cerebral artery occlusion. *Methods Mol Biol*. 2018; 1717: 101-113. doi: 10.1007/978-1-4939-7526-6_9
- Hu Q, Liu L, Zhou L, Lu H, Wang J, Chen X, et al. Effect of fluoxetine on HIF-1 α -Netrin/VEGF cascade, angiogenesis and neuroprotection in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion. *Exp Neurol*. 2020; 329: 113312. doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113312
- Miao Y, Wang R, Wu H, Yang S, Qiu Y. CPCGI confers neuroprotection by enhancing blood circulation and neurological function in cerebral ischemia/reperfusion rats. *Mol Med Rep*. 2019; 20(3): 2365-2372. doi: 10.3892/mmr.2019.10472
- Liu X, Liu J, Zhao S, Zhang H, Cai W, Cai M, et al. Interleukin-4 is essential for microglia/macrophage M2 polarization and long-term recovery after cerebral ischemia. *Stroke*. 2016; 47(2): 498-504. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.012079
- Wu G, McBride DW, Zhang JH. Axl activation attenuates neuroinflammation by inhibiting the TLR/TRAF/NF- κ B pathway after MCAO in rats. *Neurobiol Dis*. 2018; 110: 59-67. doi: 10.1016/j.nbd.2017.11.009
- Colli BO, Tirapelli DP, Carlotti CG Jr, Lopes Lda S, Tirapelli LF. Biochemical evaluation of focal non-reperfusion cerebral ischemia by middle cerebral artery occlusion in rats. *Arq Neuropsiquiatr*. 2008; 66(3B): 725-730. doi: 10.1590/s0004-282x2008000500023
- Cui D, Jia S, Yu J, Li D, Li T, Liu Y, et al. Alleviation of cerebral infarction of rats with middle cerebral artery occlusion by inhibition of aquaporin 4 in the supraoptic nucleus. *ASN Neuro*. 2020; 12: 1759091420960550. doi: 10.1177/1759091420960550
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 7th ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2013.
- Calloni RL, Winkler BC, Ricci G, Poletto MG, Homero WM, Serafini EP, et al. Transient middle cerebral artery occlusion in rats as an experimental model of brain ischemia. *Acta Cir Bras*. 2010; 25(5): 428-433. doi: 10.1590/s0102-86502010000500008
- Mazzini L, Pisano F, Zaccala M, Miscio G, Gareri F, Galante M. Somatosensory and motor evoked potentials at different stages of recovery from severe traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 1999; 80(1): 33-39. doi: 10.1016/s0003-9993(99)90304-0
- Garkavenko VV, Voloshin MY, Limanskaya LI, Podol'skii MS, Karaban'IN. Parkinson's disease and aging: Changes of somatosensory evoked potentials in humans. *Neurophysiology*. 1994; 26(2): 114-118. doi: 10.1007/BF01053088
- Bollen EL, Arts RJ, Roos RA, van der Velde EA, Buruma OJ. Somatosensory evoked potentials in Huntington's chorea. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1985; 62(4): 235-240. doi: 10.1016/0168-5597(85)90001-2
- Trenado C, Elben S, Friggemann L, Gruhn S, Groiss SJ, Vesper J, et al. Long-latency somatosensory evoked potentials of the subthalamic nucleus in patients with Parkinson's disease. *PLoS One*. 2017; 12(1): e0168151. doi: 10.1371/journal.pone.0168151
- Noachtar S, Lüders HO, Dinner DS, Klem G. Ipsilateral median somatosensory evoked potentials recorded from human somatosensory cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1997; 104(3): 189-198. doi: 10.1016/s0168-5597(97)00013-0
- Schrafl-Altermatt M, Dietz V. Task-specific role of ipsilateral pathways: Somatosensory evoked potentials during cooperative hand movements. *Neuroreport*. 2014; 25(18): 1429-1432. doi: 10.1097/WNR.0000000000000285
- Nihashi T, Naganawa S, Sato C, Kawai H, Nakamura T, Fukatsu H, et al. Contralateral and ipsilateral responses in primary somatosensory cortex following electrical median nerve stimulation – an fMRI study. *Clin Neurophysiol*. 2005; 116(4): 842-848. doi: 10.1016/j.clinph.2004.10.011
- Fujie W, Kirino T, Tomukai N, Iwasawa T, Tamura A. Progressive shrinkage of the thalamus following middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke*. 1990; 21(10): 1485-1488. doi: 10.1161/01.str.21.10.1485
- Chang SJ, Cherng JH, Wang DH, Yu SP, Liou NH, Hsu ML. Transneuronal degeneration of thalamic nuclei following middle cerebral artery occlusion in rats. *Biomed Res Int*. 2016; 2016: 3819052. doi: 10.1155/2016/3819052

23. Al-Rawi MA, Hamdan FB, Abdul-Muttalib AK. Somatosensory evoked potentials as a predictor for functional recovery of the upper limb in patients with stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2009; 18(4): 262-268. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2008.11.002

24. Shi H, Hu X, Leak RK, Shi Y, An C, Suenaga J, et al. Demyelination as a rational therapeutic target for ischemic or traumatic brain injury. *Exp Neurol.* 2015; 272: 17-25. doi: 10.1016/j.expneurol.2015.03.017

25. Cameron MH, Horak FB, Herndon RR, Bourdette D. Imbalance in multiple sclerosis: A result of slowed spinal somatosensory conduction. *Somatosens Mot Res.* 2008; 25(2): 113-122. doi: 10.1080/08990220802131127

REFERENCES

1. Muzyka IM, Estephan B. Somatosensory evoked potentials. *Handb Clin Neurol.* 2019; 160: 523-540. doi: 10.1016/B978-0-444-64032-1.00035-7

2. Alifirova VM, Tolmachev IV, Koroleva ES, Kucherova KS. Somatosensory evoked potentials in the evaluation of motor rehabilitation efficacy in patients with ischemic stroke. *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2020; 14(3): 77-81. (In Russ.). doi: 10.25692/ACEN.2020.3.10

3. Sysoev Yul, Kroshkina KA, Okovityi SV. Characteristic of somatosensory evoked potentials in rats after traumatic brain injury. *Russian Journal of Physiology.* 2019; 105(6): 749-760. (In Russ.). doi: 10.1134/S0869813919060074

4. Sysoev YI, Prikhodko VA, Chernyakov RT, Idiyatullin RD, Musienko PE, Okovityi SV. Effects of alpha-2 adrenergic agonist mafenidine on brain electrical activity in rats after traumatic brain injury. *Brain Sci.* 2021; 11(8): 981. doi: 10.3390/brainsci11080981

5. Lopez MS, Vemuganti R. Modeling transient focal ischemic stroke in rodents by intraluminal filament method of middle cerebral artery occlusion. *Methods Mol Biol.* 2018; 1717: 101-113. doi: 10.1007/978-1-4939-7526-6_9

6. Hu Q, Liu L, Zhou L, Lu H, Wang J, Chen X, et al. Effect of fluoxetine on HIF-1 α -Netrin/VEGF cascade, angiogenesis and neuroprotection in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion. *Exp Neurol.* 2020; 329: 113312. doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113312

7. Miao Y, Wang R, Wu H, Yang S, Qiu Y. CPCGI confers neuroprotection by enhancing blood circulation and neurological function in cerebral ischemia/reperfusion rats. *Mol Med Rep.* 2019; 20(3): 2365-2372. doi: 10.3892/mmr.2019.10472

8. Liu X, Liu J, Zhao S, Zhang H, Cai W, Cai M, et al. Interleukin-4 is essential for microglia/macrophage M2 polarization and long-term recovery after cerebral ischemia. *Stroke.* 2016; 47(2): 498-504. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.012079

9. Wu G, McBride DW, Zhang JH. Axl activation attenuates neuroinflammation by inhibiting the TLR/TRAF/NF- κ B pathway after MCAO in rats. *Neurobiol Dis.* 2018; 110: 59-67. doi: 10.1016/j.nbd.2017.11.009

10. Colli BO, Tirapelli DP, Carlotti CG Jr, Lopes Lda S, Tirapelli LF. Biochemical evaluation of focal non-reperfusion cerebral ischemia by middle cerebral artery occlusion in rats. *Arq Neuropsiquiatr.* 2008; 66(3B): 725-730. doi: 10.1590/s0004-282x2008000500023

11. Cui D, Jia S, Yu J, Li D, Li T, Liu Y, et al. Alleviation of cerebral infarction of rats with middle cerebral artery occlusion by inhibition of aquaporin 4 in the supraoptic nucleus. *ASN Neuro.* 2020; 12: 1759091420960550. doi: 10.1177/1759091420960550

12. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* 7th ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2013.

13. Calloni RL, Winkler BC, Ricci G, Poletto MG, Homero WM, Serafini EP, et al. Transient middle cerebral artery occlusion in rats as an experimental model of brain ischemia. *Acta Cir Bras.* 2010; 25(5): 428-433. doi: 10.1590/s0102-86502010000500008

14. Mazzini L, Pisano F, Zaccala M, Miscio G, Gareri F, Galante M. Somatosensory and motor evoked potentials at different stages of recovery from severe traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 1999; 80(1): 33-39. doi: 10.1016/s0003-9993(99)90304-0

15. Garkavenko VV, Voloshin MY, Limanskaya LI, Podol'skii MS, Karaban'IN. Parkinson's disease and aging: Changes of somatosensory evoked potentials in humans. *Neurophysiology.* 1994; 26(2): 114-118. doi: 10.1007/BF01053088

16. Bollen EL, Arts RJ, Roos RA, van der Velde EA, Buruma OJ. Somatosensory evoked potentials in Huntington's chorea. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1985; 62(4): 235-240. doi: 10.1016/0168-5597(85)90001-2

17. Trenado C, Elben S, Friggemann L, Gruhn S, Groiss SJ, Vesper J, et al. Long-latency somatosensory evoked potentials of the subthalamic nucleus in patients with Parkinson's disease. *PLoS One.* 2017; 12(1): e0168151. doi: 10.1371/journal.pone.0168151

18. Noachtar S, Lüders HO, Dinner DS, Klem G. Ipsilateral median somatosensory evoked potentials recorded from human somatosensory cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1997; 104(3): 189-198. doi: 10.1016/s0168-5597(97)00013-0

19. Schrafl-Altermatt M, Dietz V. Task-specific role of ipsilateral pathways: Somatosensory evoked potentials during cooperative hand movements. *Neuroreport.* 2014; 25(18): 1429-1432. doi: 10.1097/WNR.0000000000000285

20. Nihashi T, Naganawa S, Sato C, Kawai H, Nakamura T, Fukatsu H, et al. Contralateral and ipsilateral responses in primary somatosensory cortex following electrical median nerve stimulation – an fMRI study. *Clin Neurophysiol.* 2005; 116(4): 842-848. doi: 10.1016/j.clinph.2004.10.011

21. Fujie W, Kirino T, Tomukai N, Iwasawa T, Tamura A. Progressive shrinkage of the thalamus following middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke.* 1990; 21(10): 1485-1488. doi: 10.1161/01.str.21.10.1485

22. Chang SJ, Cherg JH, Wang DH, Yu SP, Liou NH, Hsu ML. Transneuronal degeneration of thalamic nuclei following middle cerebral artery occlusion in rats. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 3819052. doi: 10.1155/2016/3819052

23. Al-Rawi MA, Hamdan FB, Abdul-Muttalib AK. Somatosensory evoked potentials as a predictor for functional recovery of the upper limb in patients with stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2009; 18(4): 262-268. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2008.11.002

24. Shi H, Hu X, Leak RK, Shi Y, An C, Suenaga J, et al. Demyelination as a rational therapeutic target for ischemic or traumatic brain injury. *Exp Neurol.* 2015; 272: 17-25. doi: 10.1016/j.expneurol.2015.03.017

25. Cameron MH, Horak FB, Herndon RR, Bourdette D. Imbalance in multiple sclerosis: A result of slowed spinal somatosensory conduction. *Somatosens Mot Res.* 2008; 25(2): 113-122. doi: 10.1080/08990220802131127

Сведения об авторах

Сусоев Юрий Игоревич – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; научный сотрудник лаборатории нейротропозов, Институт трансляционной биомедицины, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; старший научный сотрудник лаборатории нейромодуляции двигательных и висцеральных функций, ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН; научный сотрудник лаборатории направленной внутримозговой доставки препаратов, ФГБУН «Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева» РАН, e-mail: susoyev92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4199-5318>

Приходько Вероника Александровна – аспирант, ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории направленной внутримозговой доставки препаратов, ФГБУН «Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева» РАН, e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0002-4690-1811>

Титович Ирина Александровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, e-mail: irina.titovich@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0002-1343-4663>

Карев Вадим Евгеньевич – доктор медицинских наук, руководитель отдела тканевых и патоморфологических методов исследования, ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», e-mail: vadimkarev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7972-1286>

Сергей Владимирович Оковитый – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; заведующий лабораторией направленной внутримозговой доставки препаратов, ФГБУН «Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева» РАН, e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>

Information about the authors

Yuriy I. Susoyev – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University; Research Officer at the Laboratory of Neuroprosthetics, Institute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University; Senior Research Officer at the Laboratory of Neuromodulation of Motor and Visceral Functions, Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences; Research Officer at the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, N.P. Bekhtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences, e-mail: susoyev92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4199-5318>

Veronika A. Prihodko – Postgraduate, Teaching Assistant at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University; Junior Research Officer at the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, N.P. Bekhtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences; e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com, <http://orcid.org/0000-0002-4690-1811>

Irina A. Titovich – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, e-mail: irina.titovich@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0002-1343-4663>

Vadim E. Karev – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Tissue and Pathomorphological Research Methods, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, e-mail: vadimkarev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7972-1286>

Sergey V. Okovityy – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University; Head of the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, N.P. Bekhtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences, e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>