Оценка мозгового кровообращения у крыс при эвтаназии смесью уретана и альфа-хлоралозы: возможности визуализирующей фотоплетизмографии

© А.Ю. Соколов[1,2,3], М.А. Волынский[4], Д.А. Селезнев[4], А.А. Камшилин[5]

[1] Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
[2] Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
[3] Санкт-Петербургский медико-социальный институт, Санкт-Петербург, Россия
[4] Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия
[5] Институт автоматики и процессов управления Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

e-mail: alexey.y.sokolov@gmail.com

Поступила в редакцию 25.11.2025 г.
В окончательной редакции 17.12.2025 г.
Принята к публикации 27.03.2026 г.

Визуализирующая фотоплетизмография (ВФПГ), представляющая собой бесконтактный оптический метод изучения кровоснабжения биологических тканей, успешно применяется в различных исследованиях и диагностических процедурах в качестве инструмента мониторинга изменений локальной гемодинамики в ответ на разного рода интервенции или при каких-либо патологических состояниях. В экспериментальной биомедицине уретан (Ур) и альфа-хлоралоза (Х) давно используются для анестезии лабораторных животных, однако по мнению Американской ветеринарной медицинской ассоциации эти препараты не приемлемы для эвтаназии. Цель исследования: на основании анализа динамики составляющих сигнала ВФПГ (амплитуды пульсовой компоненты (APC) и внутреннего оптического сигнала (OIS)) оценить латентный период наступления прекращения мозгового кровообращения у наркотизированных смесью УрХ крыс после внутривенной болюсной иньекции УрХ в летальной дозе и сопоставить полученные результаты с аналогичным показателем фатальных изменений в системной гемодинамике и функции газообмена. Работа выполнена на 15 наркотизированных курарезированных крысах стока Вистар, подлежащих плановой эвтаназии после завершения острых экспериментов. Визуализацию интракраниальных сосудов для записи сигналов ВФПГ проводили через истонченные теменные кости. Запись показателей APC, OIS, электрокардиограммы (ЭКГ), артериального давления (АД), CO_2 в конце выдоха (EtCO2) и частоты сердечных сокращений (ЧСС) выполняли до, во время и после инфузии летальной дозы (не менее 1000+100 mg/kg) УрХ; длительность инфузии составляла 10−15 s. Основной оцениваемой величиной было время угасания функций жизнеобеспечения (ВУФЖ), определяемое с момента начала введения УрХ и до момента констатации смерти на основании достижения композитной точки, состоящей из трех пунктов, а именно: остановка сердца (ЧСС равна нулю), падение среднего АД (сАД) ниже 10 mm Hg и снижение EtCO2 ниже 1%. Болюсное введение наркотизированной крысе УрХ в летальной дозе уже во время инфузии вызывало необратимую утрату функций жизнеобеспечения, а именно остановку сердца (ВУФЖ = 5.6 [4.0−7.0] s), критическое падение АД (ВУФЖ = 10.2 [8.2−11.7] s) и прекращение газообмена (ВУФЖ EtCO2 = 13.8 [12.9−15.5] s), что сопровождалось характерными изменениями паттернов сигналов ВФПГ (прекращение осцилляций APC, ВУФЖ = 5.5 [4.5−7.5] s и „обрыв“ уровня OIS, ВУФЖ = 10.4 [8.3−12.3] s), свидетельствующими о фатальных нарушениях кровоснабжения мозга. Таким образом, инфузия УрХ в дозе не менее 1000+100 mg/kg представляется надежным и гуманным способом эвтаназии крыс, находящихся в состоянии общей анестезии. Использование ВФПГ позволило выявить оптические маркеры прекращения мозгового кровообращения, спровоцированного УрХ.

Ключевые слова: эвтаназия, визуализирующая фотоплетизмография, уретан, альфа-хлоралоза.

DOI: 10.61011/OS.2026.05.63338.67-25

Введение

Визуализирующая фотоплетизмография (ВФПГ) представляет собой бесконтактный оптический метод изучения пространственно-временного распределения параметров кровотока, основанный на измерении интенсивности оптического излучения после его взаимодействия с биологической тканью. Основными оцениваемыми параметрами ВФПГ-сигнала являются амплитуда пульсовой компоненты (APC), вычисляемая как отношение быстро меняющейся составляющей, отражающей колебания кровенаполнения ткани на частоте сокращений сердца, к медленно меняющейся составляющей, позволяющей судить об изменении общего объёма крови

в исследуемой области [1], и внутренний оптический сигнал (OIS), который определяется медленно меняющейся составляющей [1]. Метод ВФПГ успешно используется в экспериментально-клинических исследованиях и диагностических процедурах в качестве простого и точного инструмента мониторинга изменений локальной гемодинамики в ответ на различные интервенции или при каких-либо патологических состояниях [2–6].

В экспериментальной биомедицине нередко возникает необходимость гуманного выведения животного из опыта, для чего используются различные способы эвтаназии. На протяжении не менее 20 лет наша научная группа провела множество разнообразных экспериментальных серий на крысах, наркотизированных смесью двух хорошо известных неингаляционных общих анестетиков — уретана и альфа-хлоралозы (УрХ), при этом эвтаназия находящихся в состоянии хирургического наркоза животных осуществлялась путем внутривенного введения указанной комбинации препаратов или уретана в летальных дозах [4–6]. Однако в руководстве Американской ветеринарной медицинской ассоциации ни уретан, ни альфа-хлоралоза по причинам „недостаточности данных“ или особенностей фармакокинетики соответственно не рассматриваются как „приемлемые агенты для эвтаназии“ мелких грызунов, во всяком случае при их отдельном применении, хотя оба препарата рекомендованы в качестве „анестетиков перед аппликацией одобренных дополнительных методов“ [7]. Тем не менее наш многолетний опыт позволяет с уверенностью констатировать, что болюсная инфузия УрХ исходно наркотизированному указанной смесью животному уже в момент введения препаратов вызывает необратимую остановку сердца и дыхания. Для подтверждения своих наблюдений мы выполнили работу, цель которой заключалась в следующем: на основании анализа динамики параметров APC и OIS оценить латентный период наступления прекращения мозгового кровообращения после внутривенной инъекции УрХ в летальной дозе и сопоставить полученные результаты с аналогичным показателем фатальных изменений в системной гемодинамике и функции внешнего дыхания.

Материалы и методы

Лабораторные животные: соблюдение этических стандартов и подготовка к эксперименту

Работа выполнена на 15 самцах крыс стока Вистар массой 423 ± 82 g, которые подлежали плановому выведению из острых экспериментов в рамках научного проекта, посвященного изучению с помощью ВФПГ эффектов суматриптана на вызванные внутрибрюшинным (в/б) назначением нитроглицерина изменения внутричерепного кровотока, результаты которого были опубликованы в журнале Scientific Reports [6]. Условия

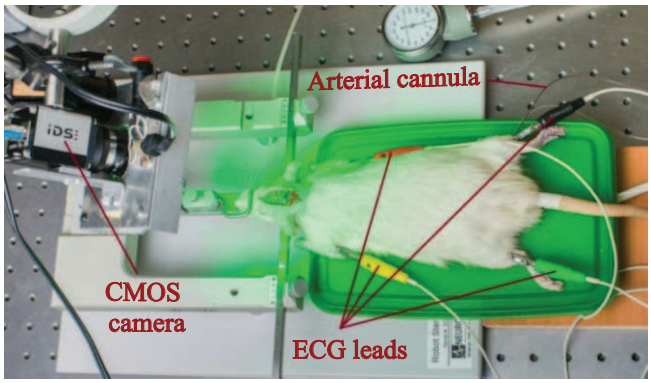

Рис. 1. Общий вид экспериментальной установки. Обозначения: CMOS camera — КМОП-камера с кольцевым осветителем системы ВФПГ, ECG leads — игольчатые электроды аппарата ЭКГ, Arterial cannula — пластиковая канюля в правой бедренной артерии для контроля артериального давления.

содержания животных и их подготовка к опытам подробно описаны в указанной статье и соответствовали этическим нормам Международной ассоциации по изучению боли и Директивы 2010/63/EU Европарламента; протокол исследования был одобрен локальным комитетом по этике ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова (No. 100_ИФ2_122023/26_210). Вкратце, анестезированным с помощью в/б инъекции УрХ (индукционная доза 800 mg/kg уретана (Sigma, St. Louis, MO, США) + 60 mg/kg альфа-хлоралозы (Sigma, St. Louis, MO, США), дополнительное титрование в/б болюсами по $100 + 7.5$ mg/kg соответственно в режиме „по требованию“ до достижения хирургической стадии наркоза) крысам выполнялись трахеостомия, канюлирование бедренных вены и артерии, установка в/б катетера и формирование двух закрытых краниальных окон (ЗКО) путем послойного истончения теменных костей.

Технические средства жизнеобеспечения и мониторинга физиологических параметров

После завершения хирургической подготовки животное помещалось в стереотакс (Stoelting Co., Wood Dale, IL, США), далее осуществлялись миорелаксация (пипекурония бромид („Ардуан“, Gedeon Richter, Будапешт, Венгрия), в/в, 1 mg/kg — индукция, 0.4 mg/kg — поддержание), перевод на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) (дыхательный аппарат SAR-830, CWE, Inc., Ardmore, Pennsylvania, США) и подключение оборудования, позволяющего проводить постоянный мониторинг артериального давления (АД), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и содержания углекислого газа в конце выдоха (EtCO2) (усилитель с датчиком давления MLT844 (AD Instruments Inc., Colorado Springs, США) и газоанализатор Capstar-100 (CWE, Inc., Ardmore PA, США), объединенные с аналого-цифровым преобразователем Power1401-3 с программным обеспечением

Spike2,v.8 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Великобритания)), а также электрокардиограммы (ЭКГ) (аппарат КАР-01-Кардиотехника-ЭКГ, ООО „ТД „ИН-КАРТ“, Санкт-Петербург, Россия) и температуры тела (термоконтроллер Bio-TC1, ООО НПФ „Биотехнологии“, Санкт-Петербург, Россия).

Над головой крысы монтировалась система ВФПГ, состоящая из цифровой КМОП-камеры (8-бит, модель GigE uEye UI-5220SE, Imaging Development Systems GmbH, Германия) и кольцевого осветителя с 8 светодиодами (модель TDS-P003L4F07, TDS Lighting Co., Китай) с длиной волны 525 ± 25 nm, световым потоком в 100 lm и мощностью 3 W каждый (рис. 1). Для формирования изображения использовался объектив с фокусным расстоянием 25 mm (модель M1214-MP2, Computar, Япония). Освещение объекта и регистрация изображений выполнялись через линейно поляризующую пленку в ортогонально скрещенных направлениях поляризации для устранения эффектов отражения от поверхности [8]. Видеокадры записывались с частотой 100 кадров в 1 s, размер одного кадра составлял 752−480 px, кадры передавались на персональный компьютер через интерфейс Ethernet и сохранялись в формате PNG. Вместе с видеозаписью велась запись сигнала ЭКГ в двух отведениях, причем синхроимпульсы от видеокамеры передавались в один их каналов ЭКГ, обеспечивая тем самым синхронизацию записи видео и ЭКГ с точностью по времени не хуже, чем 1 ms. Данные ЭКГ передавались в персональный компьютер через интерфейс USB 2.0. Визуализация менингеальных сосудов осуществлялась через ЗКО, на поверхность которого для повышения прозрачности наносили жидкий парафин („Вазелиновое масло“, ООО „ВЕСТ“, Россия).

Эвтаназия

Согласно дизайну основного исследования [6], всем животным перед выведением назначали нитроглицерин (в/б, 10 mg/kg, „Перлинганит“, EVER Pharma Jena, GmbH, Германия), из них 8 и 6 особей дополнительно получали в/в суматриптан (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Япония) в дозах 4 и 10 mg/kg соответственно, а 1 крысе в/в вводили эквивалентный объем (0.8 ml) изотонического раствора натрия хлорида. У всех животных проводили запись параметров ВФПГ и основных физиологических показателей в течение 2.5 h, после чего выполняли эвтаназию. Общее время пребывания крыс в эксперименте с момента индукции анестезии и до момента завершения опыта составляло не менее 6 h.

Непосредственно перед эвтаназией все животные находились в стадии хирургического наркоза, на ИВЛ и со стабильными показателями функции сердечно-сосудистой системы, температуры тела и газообмена. Выведение животных из опыта осуществляли путем в/в болюсного введения УрХ в дозе не менее 1000+100 mg/kg, растворенных в объеме не менее 1.5 ml изотонического раствора хлорида натрия; время инфузии составляло 10−15 s. Запись всех гемодинамических показателей и сигналов ВФПГ начиналась за 60 s до старта инъекции УрХ и продолжалась в течение 3 min. Смерть констатировали на основании достижения композитной точки, состоящей из трех пунктов, а именно: остановка сердца (ЧСС равна нулю), падение среднего АД (сАД) ниже 10 mm Hg и снижение EtCO2 ниже 1%. Выбор отличного от нуля значения сАД был основан на том, что сАД < 10 mm Hg, тем более при его продолжающемся снижении, говорит о полной несостоятельности системного кровообращения, отсутствии эффективной тканевой перфузии и свидетельствует лишь об остаточном гидростатическом давлении в системе „артерия−канюля−датчик“. В свою очередь в клинической практике показатель EtCO2 $< 1\%$ является основанием для прекращения реанимационных мероприятий в силу их очевидной бесперспективности [9]. Аппарат ИВЛ отключали при индикации EtCO2 0%.

Обработка данных

Основной оцениваемой величиной было время угасания функций жизнеобеспечения (ВУФЖ), определяемое с момента начала введения летальной дозы УрХ и до момента констатации смерти согласно критериям, указанным в п. 3. ВУФЖ рассчитывали отдельно для сАД, ЧСС, EtCO2 и ВФПГ-индексов, при этом резкие изменения нормальных паттернов APC (прекращение осцилляций) и OIS („обрыв“ уровня сигнала) рассматривались как свидетельствующие о прекращении мозгового кровообращения.

Для анализа динамики изучаемых физиологических показателей использовали программные пакеты Spike2, v. 8 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Великобритания), MATLAB версии R2024a (MathWorks, Natick, Massachusetts, США) и GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, США).

Для расчета параметра APC производилось вычисление медленно меняющейся компоненты (DC) сигнала ВФПГ с использованием фильтра нижних частот (фильтр Баттерворта 4-го порядка) с помощью функции filtfilt в MATLAB для исключения фазового смещения. Далее вычислялась быстро меняющаяся (AC) компонента ВФПГ сигнала как

$$\mathrm{AC} = -\left(\frac{\mathrm{row_{PPG}}}{\mathrm{DC}} - 1\right) 100\%, \qquad (1)$$

где $\mathrm{row_{PPG}}$ — исходный („сырой“) ВФПГ-сигнал. Вычитание единицы обусловлено необходимостью сведения сигнала в диапазон [-1;1], инвертирование сигнала выполнено для того, чтобы большим значениям сигнала соответствовало большее кровенаполнение. После этого для вычисления параметра APC производилось усреднение AC, отложенных от очередного R-пика ЭКГ, по 12 кардиоциклам ($\overline{\mathrm{AC}}$), как указано в статье [10], и вычисление амплитуды полученной усредненной волны:

$$\mathrm{APC} = \max(\overline{AC}) - \min(\overline{AC}). \qquad (2)$$

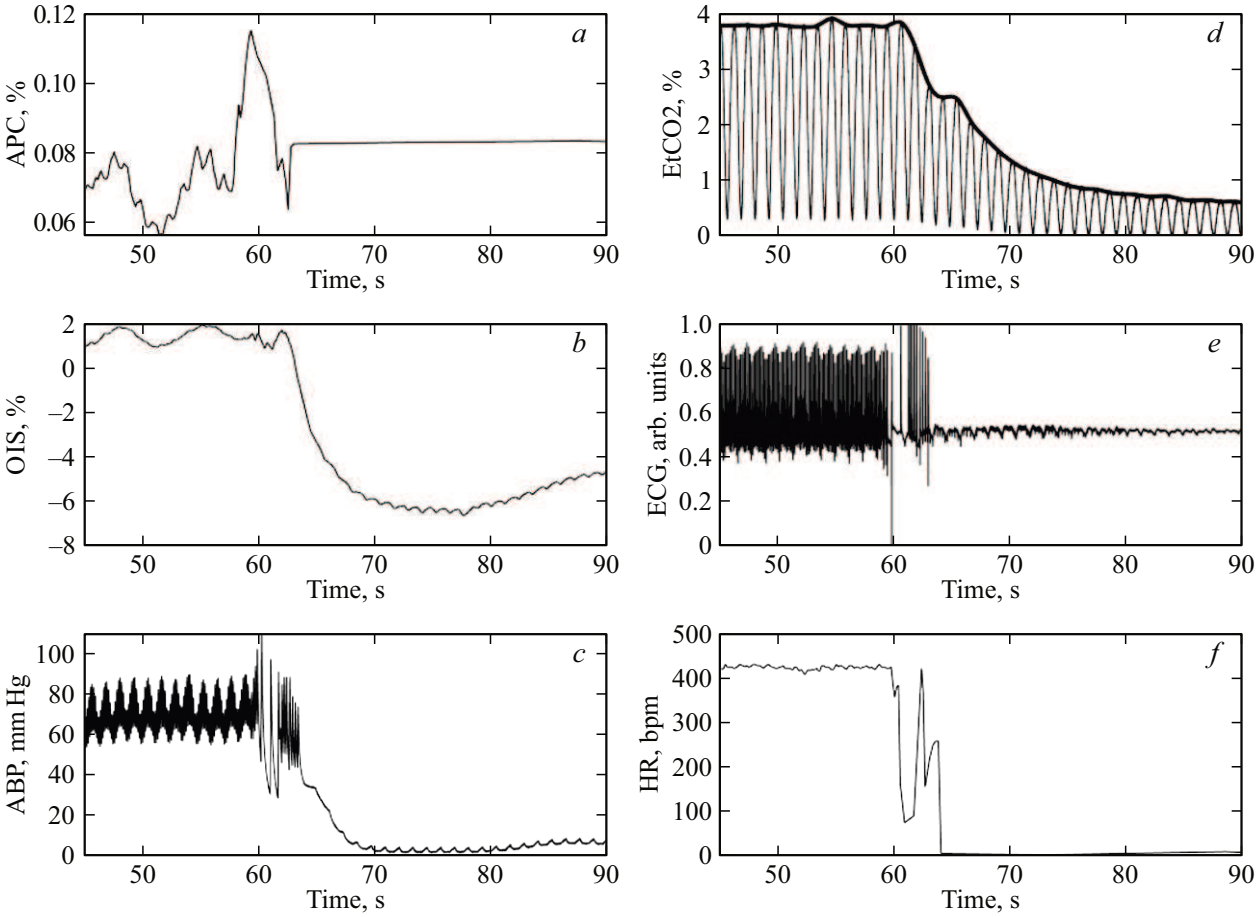

Рис. 2. Пример типичных изменений нативных записей оцениваемых физиологических параметров на фоне в/в введения УрХ в летальной дозе (начало инфузии на 60 s).

Вычисление параметра OIS выполнялось по алгоритму, описанному в работе [5]:

$$\mathrm{OIS}_i(x, y) = \frac{I_0(x, y) - I_i(x, y)}{I_0(x, y)} 100\%, \qquad (3)$$

где $I_0(x, y)$ — пространственное распределение яркости пикселей в первом кадре видео мозга, записанном для каждого животного, а $I_i(x, y)$ — распределение яркости пикселей в последующих регистрируемых кадрах, i — номер кадра, x, y — пространственные координаты изображений.

При регистрации и обработке ЭКГ выполнялись нелинейные преобразования получаемого электрического сигнала, ввиду чего значения представлялись в нормированном виде в диапазоне [0; 1]. Такой уход от традиционного измерения электрической активности сердца в физических величинах не являлся ограничивающим настоящее исследование.

Для выявления существенных различий между значениями ВУФЖ для разных параметров использовали критерий Уилкоксона (Wilcoxon signed-rank test); выбор непараметрического метода был сделан на основании ненормальности распределения данных согласно тесту Шапиро–Вилка. В таблицах и графиках результаты представлены как Me[Q1-Q3].

Результаты

Исходные (до начала введения летальной дозы УрХ) значения показателей системной гемодинамики, газообмена и ВФПГ представлены в табл. 1.

Болюсное в/в введение УрХ оказывало „обрывной“ эффект на все оцениваемые показатели, который начинал развиваться „на кончике иглы“, т. е. непосредственно во время инфузии (рис. 2); значения ВУФЖ (в секундах) представлены в табл. 2.

При сравнении ВУФЖ-показателей ВФПГ и системных параметров выявлено, что ВУФЖ (APC) не отличается от ВУФЖ (ЧСС) ($P = 0.4651$), но существенно отличается от ВУФЖ (сАД) ($P = 0.0017$, Wilcoxon matched-pairs signed rank test). В свою очередь значимые различия ВУФЖ обнаружены в паре OIS-ЧСС ($P = 0.0065$), но не при сопоставлении OIS и сАД ($P = 0.9460$, Wilcoxon matched-pairs signed rank test).

Таблица 1. Исходные значения оцениваемых физиологических параметров

ВФПГ показатели		Системные показатели		
APC, %	OIS, %	сАД, mm Hg	ЧСС, bpm	EtCO2, %
0.08 [0.05-0.1]	1.03 [0.67-1.4]	58 [46-69]	390 [327-421]	3.65 [3.4-3.7]

Таблица 2. Значения ВУФЖ по оцениваемым физиологическим параметрам

ВФПГ-показатели, s		Системные показатели, s		
APC, %	OIS, %	сАД, mm Hg	ЧСС, bpm	EtCO2, %
5.5 [4.5–7.5]	10.4 [8.3–12.3]	10.2 [8.2–11.7]	5.6 [4.0–7.0]	13.8 [12.9–15.5]

Обсуждение

В проведенном нами исследовании было впервые показано, что в/в болюсное введение наркотизированной крысе УрХ в летальной дозе уже во время инфузии вызывает необратимую утрату функций жизнеобеспечения, а именно остановку сердца, критическое падение АД и прекращение газообмена, что сопровождается характерными изменениями сигналов ВФПГ, свидетельствующими о фатальных нарушениях кровоснабжения мозга. Полученные результаты говорят о высокой мощности, быстроте действия и надежности УрХ как комбинированного препарата для эвтаназии, во всяком случае при его в/в назначении мелким грызунам, находящимся под общей анестезией, и лишний раз подтверждают высокую чувствительность метода ВФПГ как инструмента оценки внутричерепной гемодинамики.

Уретан относится к неингаляционным анестетикам длительного действия, который используется исключительно при проведении острых опытов, не предусматривающих выход животного из наркоза и восстановление его сознания („non-recovery“ процедуры). Такого рода ограничение связано с канцеро- и мутагенными свойствами препарата, а также его способностью провоцировать осложнения в постоперационном периоде [11–13].

Вместе с тем уретан позиционируется как анестетик, минимально подавляющий нейрональную активность в некоторых областях ЦНС и сохраняющий ряд вегетативных рефлексов, что делает его средством выбора при проведении нейрофизиологических исследований, а также изучении дыхательной функции, реакций сердечно-сосудистой системы, моторики мочевыводящих путей и желудочно-кишечного тракта [14–16]. Состояние уретанового наркоза предлагалось использовать в качестве модели сна [17], хотя на эту тему есть альтернативные мнения [18,19]. В целом, по некоторым характеристикам уретан не уступает более современным и известным анестетикам, использующимися в клинической медицине, таким как кетамин [20], пропофол [21] и изофлуран [22,23].

Альфа-хлоралоза — неингаляционный общий анестетик длительного действия, мощный гипнотик со слабой аналгетической активностью, по некоторым свойствам напоминает уретан и аналогично ему используется только в non-recovery-экспериментах [11,13]. Препарат может провоцировать развитие конвульсий, ацидоза, угнетения дыхания и аритмий и вне лабораторной практики применятся в некоторых странах в качестве родентоцида, что является причиной случайных отравлений домашних животных [24] и людей [25]. Комбинированная анестезия смесью УрХ позволяет усилить наркотизирующий эффект и за счет снижения дозы каждого из компонентов, особенно уретана, минимизировать риски развития нежелательных реакций.

Выявленные нами с помощью ВФПГ изменения сигналов APC и OIS, возникающие на фоне введения летальной дозы УрХ, свидетельствуют о драматически быстром наступлении необратимого прекращения мозгового кровообращения. При сопоставлении ВУФЖ для показателей системной гемодинамики и церебрального кровотока обращает на себя внимание высокий уровень соответствия значений ЧСС и APC, а также OIS и сАД, что вполне объяснимо природой происхождения сигналов ВФПГ. Действительно, APC модулирована на частоте пульсации артерий, соответственно точка начала её „выравнивания“ на записи практически совпадает с моментом остановки сердца. В то же время OIS зависит от общего объема кровоснабжения мозга, поддержание которого непосредственно связано с уровнем АД, соответственно „обрушение“ OIS происходит почти синхронно с падением АД. Таким образом, можно констатировать, что УрХ быстро вызывает своего рода „фармакологическое обескровливание“ мозга, приводящее к прекращению его деятельности.

На фоне полученных нами результатов позиция упомянутой в разделе „Введение“ Американской ветеринарной медицинской ассоциации по поводу уретана и альфа-хлоралозы как неприемлемых препаратов для эвтаназии грызунов вызывает некоторое недоумение, особенно с учетом того, что к числу разрешенных методов выведения относят такие способы, как ингаляция монооксидом

углерода или цервикальная дислокация [7]. Впрочем, по всей видимости, авторы документа имели в виду эвтаназию бодрствующих животных, наивных в отношении предварительного получения каких-либо фармакологических средств, угнетающих сознание и/или ноцицепцию. В то же время в иных руководствах, например в рекомендациях Комитета по использованию животных в научных целях Университета Северного Техаса, уретан в дозе 1.5 g/kg (причем в/б) рассматривается в качестве средства для эвтаназии „в экспериментах с крысами, изначально анестезированными летучим анестетиком, например изофлураном; особо подчеркивается, что „в/в введение болюсной дозы уретана приводит к немедленной смерти“ [12]. В наших экспериментах все животные, подлежащие выведению, как уже было сказано ранее, находятся в состоянии хирургического наркоза и дополнительное назначение УрХ, по сути, является умышленной передозировкой анестетиков, вызывающей быстрый летальный исход.

Заключение

Болюсное в/в введение УрХ в дозе не менее 1000+100 mg/kg представляется надежным и гуманным способом эвтаназии крыс, находящихся в состоянии общей анестезии, обеспечивающим быстрое угасание всех функций жизнеобеспечения. Использование ВФПГ позволило выявить оптические маркеры прекращения мозгового кровообращения, спровоцированного УрХ.

Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 25-15-00400) в части разработки программного обеспечения, обработки и анализа данных, а также поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФБГУН ИАПУ ДВО РАН (номер госрегистрации: 125020301282-0) в части реализации экспериментального исследования и ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (№ 1021062411784-3-3.1.8) в части предоставления лабораторных животных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] J. de Pedro-Carracedo, D. Fuentes-Jimenez, M.F. Cabrera-Umpi'errez, A.P. Gonz'alez-Marcos. Sci. Rep., **15** (1), 14645 (2025). DOI: 10.1038/s41598-025-97573-4

[2] O.V. Mamontov, V.V. Zaytsev, A.A. Kamshilin. Biomed. Opt. Express, **15** (2), 687 (2024). DOI: 10.1364/BOE.511925

[3] A.A. Kamshilin, V.V. Zaytsev, A.V. Lodygin, V.A. Kashchenko. Sci. Rep., **12** (1), 1143 (2022). DOI: 10.1038/s41598-022-05080-7

[4] M.A. Volynsky, O.V. Mamontov, A.V. Osipchuk, V.V. Zaytsev, A.Y. Sokolov, A.A. Kamshilin. Biomed. Opt. Express, **13** (1), 184 (2021). DOI: 10.1364/BOE.443477

[5] A.Y. Sokolov, M.A. Volynsky, V.V. Zaytsev, A.V. Osipchuk, A.A. Kamshilin. J. Headache Pain, **22** (1), 18 (2021). DOI: 10.1186/s10194-021-01226-6

[6] A.Y. Sokolov, M.A. Volynsky, A.V. Potapenko, P.M. Iurkova, V.V. Zaytsev, E. Nippolainen, A.A. Kamshilin. Sci. Rep., **13** (1), 11928 (2023). DOI: 10.1038/s41598-023-39171-w

[7] *The AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition* [Электронный ресурс] URL: https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf

[8] I.S. Sidorov, M.A. Volynsky, A.A. Kamshilin. Biomed. Opt. Express, **7** (7), 2469 (2016). DOI: 10.1364/BOE.7.002469

[9] J. Alysha, B. Morshedi, R. Fowler. *The Role of ETCO2 in Termination of Resuscitation* [Электронный ресурс]. URL: https://www.jems.com/patient-care/cardiac-resuscitation/the-role-of-etco2- in-termination-of-resuscitation

[10] M.A. Volynsky, N.B. Margaryants, O.V. Mamontov, A.A. Kamshilin. Applied Sciences, **9** (22), 4947 (2019). DOI: 10.3390/app9224947

[11] Institutional Animal Care and Use Committee of the University of British Columbia. *Rat and mouse anesthesia and analgesia, 2016* [Электронный ресурс]. URL: https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/Guideline%20-%20Rodent%20Anesthesia%20Analgesia%20Formulary%20%282016%29.pdf

[12] Institutional Animal Care and Use Committee of the University of North Texas. *Use of Urethane in Rodents, 2020.* [Электронный ресурс]. URL: https://research.unt.edu/files/default/files/iacuc%?????_sop_02_32_00_use_of_urethane_in_rodents.pdf

[13] Unit for Laboratory Animal Medicine of the Michigan University. *Guidelines on Anesthesia and Analgesia in Rats, 2025.* [Электронный ресурс]. URL: https://az.research.umich.edu/animalcare/guidelines/guidelines-anesthesia-and-analgesia-rats

[14] C.A. Maggi, A. Meli. Experientia, **42** (2), 109 (1986). DOI: 10.1007/BF01952426

[15] C.A. Maggi, A. Meli. Experientia, **42** (3), 292 (1986). DOI: 10.1007/BF01942510

[16] C.A. Maggi, A. Meli. Experientia, **42** (5), 531 (1986). DOI: 10.1007/BF01946692

[17] S. Pagliardini, G.D. Funk, C.T. Dickson. Respir. Physiol. Neurobiol., **188** (3), 324 (2013). DOI: 10.1016/j.resp.2013.05.035

[18] A. Mondino, J. Gonz?lez, D. Li, D. Mateos, L. Osorio, M. Cavelli, J.P. Castro-Nin, D. Serantes, A. Costa, G. Vanini, G.A. Mashour, P. Torterolo. Eur. J. Neurosci., **59** (4), 483 (2024). DOI: 10.1111/ejn.15690

[19] J. Branka?k, Y. Yanovsky, A.B.L. Tort, A. Draguhn. Sci. Rep., **15** (1), 18270 (2025). DOI: 10.1038/s41598-025-01762-0

[20] C. Lee, T.A. Jones. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci., **57** (3), 268 (2018). DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-17-000131

[21] A.A. Moheban, H.H. Chang, L.A. Havton. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci., **55** (1), 89 (2016).

[22] V. Shumkova, V. Sitdikova, I. Rechapov, A. Leukhin, M. Minlebaev. Sci. Rep., **11** (1), 9567 (2021). DOI: 10.1038/s41598-021-88461-8

[23] J.A. Beitchman, G. Krishna, C.E. Bromberg, T.C. Thomas. BMC Neurosci., **24** (1), 52 (2023). DOI: 10.1186/s12868-023-00822-3
[24] M.A. Dijkman, J.H. Robben, A.J.H.P. van Riel, D.W. de Lange. Vet. Rec., **192** (1), e2342 (2023). DOI: 10.1002/vetr.2342
[25] E.M. Samali, A. El Koundi, A. Meskine, H. Balkhi, M. Moussaoui. Afr. J. Emerg. Med., **15** (3), 100887 (2025). DOI: 10.1016/j.afjem.2025.100887