

А.В. Моргун, Н.В. Кувачёва, Т.Е. Таранушенко, Е.Д. Хилажева, С.И. Устинова, А.Б. Салмина

НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Российская Федерация

Способы экспериментального моделирования перинатального гипоксически-ишемического поражения головного мозга *in vivo*

Контактная информация:

Моргун Андрей Васильевич, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры педиатрии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 243-39-52, e-mail: 441682@mail.ru

Статья поступила: 15.10.2014 г., принята к печати: 27.10.2014 г.

Обзор посвящен современным подходам к изучению патогенеза перинатального гипоксически-ишемического повреждения центральной нервной системы. Представлена классификация и описание способов моделирования гипоксически-ишемической патологии центральной нервной системы на экспериментальных животных. Описаны их преимущества и недостатки. Отмечено, что отсутствует единственная идеальная экспериментальная модель гипоксии-ишемии *in vivo*. По этой причине исследователи сталкиваются с необходимостью выбора адекватной экспериментальной модели перинатального гипоксически-ишемического поражения центральной нервной системы у человека.

Ключевые слова: головной мозг, перинатальная патология, гипоксия, ишемия, модель, лабораторные животные. (Вопросы современной педиатрии. 2014; 13 (5): 31–36)

31

ВВЕДЕНИЕ

Проблема перинатального поражения головного мозга гипоксически-ишемического генеза остается актуальной и находится в центре внимания научных исследований медицинского и социального направлений. Это обусловлено высокой летальностью и инвалидизацией при этих поражениях, влиянием на нервно-психическое и соматическое развитие детей, их социальную адаптацию в дальнейшем, сохраняющимися значительными трудностями в диагностике и лечении [1, 2]. При этом проводящиеся в настоящее время терапевтические мероприятия у детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы (ЦНС) в ряде случаев оказываются недостаточно эффективными.

Тяжесть медико-социальных последствий перинатальной гипоксически-ишемической патологии ЦНС диктует необходимость использования новых подхо-

дов к изучению особенностей патогенеза и механизмов репарации поврежденной ткани ЦНС, определения степени морфологических изменений на молекулярно-клеточном уровне и возможностей ограничения очага повреждения с сохранением жизнеспособности клеток нервной ткани и их функциональной активности, а также ранней, в т.ч. доклинической, диагностики и разработки терапевтических мероприятий в период интенсивного созревания и развития мозга.

Однако при проведении фундаментальных исследований патологии ЦНС новорожденного имеются определенные сложности:

- биологические (анатомио-физиологические особенности детей);
- этические (невозможность проведения исследований у детей и получения биопсийного материала, недопустимость тестирования лекарственных препаратов).

A.V. Morgun, N.V. Kuvacheva, T.E. Taranushenko, E.D. Khilazheva, S.I. Ustinova, A.B. Salmina

Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, V.F. Voino-Yasenetksy Krasnoyarsk State Medical University, Russian Federation

Modern Methods of Perinatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury Modeling *in vivo*

Review describes modern approaches to the study of pathogenic mechanisms of perinatal hypoxic-ischemic brain injury. The classification of modeling methods hypoxic-ischemic brain injury *in vivo* reflects the basic approaches to disease modeling. Given the nature of the brain pathology in the perinatal period, the article details the characteristic of global cerebral ischemia models, which are currently in use. It should be remembered that there is still no single ideal experimental model of hypoxia-ischemia *in vivo*, which completely mimics the human pathology, and that must be considered when planning experiments.

Key words: brain, perinatal brain injury, hypoxia, ischemia, *in vivo* model, laboratory animals.

(Voprosy sovremennoy pediatrii — Current Pediatrics. 2014; 13 (5): 31–36)

Для решения названных выше задач возможно использование моделей *in vivo* с учетом особенностей развивающегося мозга, а также соответствия моделей животных возрасту человека [3–6].

Исследования различных аспектов перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС проводятся на приматах, свиньях, овцах, кроликах и грызунах [7–11]. Учитывая достаточно большое сходство кровоснабжения головного мозга и нейробиологии грызунов и высших млекопитающих, а также практические и экономические преимущества экспериментальных моделей гипоксически-ишемического поражения ЦНС, модели с использованием грызунов (мыши, крысы, морские свинки) в настоящее время используют чаще, чем модели с задействованием крупных животных [12–14].

Ведущими причинами перинатальной энцефалопатии являются нарушения фетоплацентарного и маточно-плацентарного кровотока, дыхательная и сердечная недостаточность, а ведущими звеньями патогенеза — гипоксия и ишемия мозга, феномен реперфузии и эксайтотоксичности, энергетический дисбаланс и оксидативный стресс на клеточном уровне. Исходом указанных процессов является гибель клеток ЦНС [15]. При этом патоморфологические изменения в ткани головного мозга (перивентрикулярная лейкомаляция, внутрижелудочковые и перивентрикулярные кровоизлияния, некроз вещества мозга, ишемический и геморрагический инсульт) зависят от характера и длительности патологического воздействия, а также зрелости ЦНС.

Клиническая картина перинатальных гипоксически-ишемических поражений ЦНС у детей представлена часто встречающимися клиническими синдромами (угнетения, возбуждения, судорожным, минимальной мозговой дисфункцией) [16], но может отличаться от таковой у лабораторных животных, несмотря на то, что исходом перинатальной энцефалопатии и у человека, и лабораторных животных является развитие психоневрологического дефицита. Именно поэтому при моделировании гипоксически-ишемического поражения ЦНС необходимо добиться не просто сходства клинических проявлений, но максимального тождества основных механизмов развития гипоксически-ишемического повреждения у человека и экспериментальных животных [3].

В рамках настоящего обзора проанализированы основные способы моделирования глобальной церебральной гипоксии-ишемии на лабораторных животных.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБОВ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В целом экспериментальные модели церебральной гипоксии-ишемии можно охарактеризовать как глобальные, фокальные и мультифокальные. Основные их отличия состоят в том, что при глобальной гипоксии-ишемии происходит уменьшение церебрального кровотока во всем головном мозге (полная глобальная гипоксия-ишемия) или в большей его части (неполная глобальная гипоксия-ишемия); при фокальной наблюда-

ется уменьшение притока крови к различным, но определенным регионам мозга. Очень важным моментом при моделировании гипоксии-ишемии является вид и возраст лабораторных животных. Таким образом, необходимо учитывать соответствие возрастной морфофункциональной организации мозга лабораторных животных мозгу новорожденного [17].

В зависимости от подхода к моделированию церебральной гипоксии-ишемии классификацию экспериментальных моделей можно представить в следующем виде.

- ◆ Глобальная (общая) церебральная гипоксия-ишемия.
 - Полная.
 - Накладывание жгута или манжеты на шею.
 - Декапитация.
 - Остановка сердца (фибрилляция желудочков).
 - Окклюзия аорты или полой вены.
 - Гипоксическая аноксия новорожденных.
 - Внутриутробная ишемия (аноксия) плода.
 - Неполная церебральная гипоксия-ишемия.
 - Гипоксическая ишемия.
 - Двухсосудистая окклюзия общих сонных артерий и гипотензия.
 - Четырехсосудистая окклюзия (общих сонных и позвоночных артерий).
- ◆ Фокальная церебральная гипоксия-ишемия.
 - Окклюзия средней мозговой артерии.
 - Эндотелин-1-индуцированное сужение артерий и вен.
 - Эмболизация (макросферами).
- ◆ Мультифокальная церебральная гипоксия-ишемия.
 - Тромбоэмболия.
 - Эмболизация (микросферами).
 - Фотоиндуцированный тромбоз.

С учетом этиопатогенетических особенностей именно перинатального поражения ЦНС ниже приведены основные модели глобальной церебральной ишемии *in vivo*.

МОДЕЛИ ПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Накладывание жгута или манжеты на шею. Одна из первых моделей глобальной ишемии — накладывание манжеты на шею у крупных животных. На основе этой модели изучены последствия острого кратковременного прекращения кровообращения в головном мозге, особенности поведенческих реакций и неврологических расстройств животных в ранний и поздний восстановительный период, а также эффекты длительной гипоксии (более 8 мин) [18]. Несколько позднее техника накладывания манжеты на шею с модификациями (артериальная гипотензия) использовалась на приматах [19] и свиньях [20]. В целом эта модель лучше всего подходит для изучения особенностей нарушения кровообращения в гиппокампе и стволе головного мозга. Основным недостатком указанной методики является то, что позвоночные артерии подвергаются не полной окклюзии, т.к. они проходят внутри позвонков. Таким образом, для достижения полной остановки кровотока необходимо производить оперативное выделение

артерий с последующей их перевязкой. У мелких лабораторных животных такая методика практически не применяется вследствие анатомо-физиологических особенностей их строения и развития различных осложнений (повреждение позвонков, спинного мозга, сдавление блуждающего нерва).

Декапитация. Модель гипоксически-ишемического поражения на основе декапитации была предложена в 60-х годах XX в. и в настоящее время применяется достаточно редко, в основном для исследования патогенеза глобальной ишемии, а также механизмов действия различных быстродействующих разрабатываемых лекарственных средств [21, 22]. Однако при декапитации невозможно исследовать эффект различных модуляторов лекарственных веществ, а также особенности локальных расстройств кровоснабжения и эффекта реперфузии. Тем не менее головной мозг после декапитации может храниться длительное время в замороженном виде или гомогенизированном состоянии для последующих биохимических исследований.

Остановка сердца (фибрилляция желудочков). Указанную методику обычно применяют для имитации клинической ситуации остановки сердца. Именно ее использовали многие исследователи для изучения эффективности сердечно-легочной реанимации и ее последствий для ЦНС [23–27]. По результатам исследований на этой модели в практическую медицину внедрены правила сердечно-легочной реанимации, в т.ч. тройной прием Сафара. Модель считается достаточно сложной с точки зрения технического исполнения, а также экономически затратной, вследствие чего используется в основном на крупных животных. Однако существует техника моделирования глобальной гипоксии-ишемии путем остановки сердца у мышей, что оптимально для изучения изменений в гиппокампе, передней и задней скорлупе [28]. С использованием данной модели продолжают исследования молекулярных особенностей патогенеза гипоксически-ишемического поражения ЦНС, а также тестируются новые лекарственные препараты для терапии постгипоксической энцефалопатии [29–31].

Окклюзия аорты или полый вены. В результате остановки сердца наблюдается ишемия всего организма и вовлечение в патологический процесс всех его органов и систем, что утяжеляет повреждение головного мозга и не позволяет оценить изолированное влияние гипоксии-ишемии на ЦНС. Были предложены различные варианты модели глобальной гипоксии-ишемии на основе окклюзии крупных сосудов, в первую очередь аорты и/или полый вены, что позволило минимизировать внецеребральные проявления ишемии.

Используя технику окклюзии крупных сосудов, установили, что гипербарическая кислородная терапия, проводимая в ранний постишемический период, оказывает положительное терапевтическое действие: ускоряет неврологическое восстановление и улучшает выживаемость даже после пятнадцатиминутной глобальной ишемии [32, 33]. Основным недостатком окклюзии крупных сосудов является оперативная сложность и высокая летальность экспериментальных животных.

Гипоксическая аноксия новорожденных. Это достаточно простой способ моделирования гипоксического поражения ЦНС, предложенный в начале 90-х гг. XX в. [34]. Метод основан на том, что после рождения (1–2-е сут жизни) животных помещают в герметичный сосуд со 100% азотной атмосферой. Выживших животных возвращают к кормящей самке. Использование указанной модели позволило провести исследование роли таких белков-мишеней, как PARP-1, XRCC1, ДНК-лигаза III α , ДНК-полимераза β , ERCC2, ДНК-зависимая протеинкиназа, а также антиоксидантов и витаминов для терапии гипоксической энцефалопатии [35–37]. Установлена роль аноксии в развитии синдрома гиперактивности, созревании нервной ткани, влиянии на пространственную память [38]. Доказано изменение числа корковых и гиппокампальных нейронов в пораженном мозге, установлена роль гиппокампа в реализации пространственной памяти [39]. Несмотря на простоту модели, она обладает рядом недостатков: в период аноксии погибает большое число животных, в эксперимент вводят нормально рожденных животных, испытывавших физиологический родовой стресс, который неполно соответствует этиопатогенезу гипоксически-ишемического поражения ЦНС у человека [40].

Внутриутробная ишемия (аноксия) плода. Для нивелирования недостатков предыдущей модели в 1997 г. был предложен метод внутриутробной гипоксии плода. В последний день гестации забивают беременных крыс и производят гистерэктомию. Выделенную матку с плодами помещают в водяную баню с температурой +37°C на 5–20 мин, после чего извлекают плоды из матки, перевязывают пуповину и переносят плоды в инкубатор на 1 ч при +37°C [41].

Полагают, что данная модель является одной из наиболее адекватных реальным условиям асфиксии в родах у человека. С ее помощью проведены исследования:

- специфических биомаркеров гипоксически-ишемического поражения ЦНС для раннего прогнозирования исходов;
- краткосрочных и долгосрочных последствий перинатальной асфиксии (летальный исход, задержка психомоторного развития, дефицит внимания, синдром гиперактивности);
- роли энергетического дефицита и дефицита кальция в патогенезе гипоксически-ишемического поражения ЦНС;
- особенностей межклеточных взаимодействий и апоптоза (FGFR, Spry, Sef, FLRT3, BDNF, EGF, NGF, CNTF, GDNF);
- репаративных процессов, в т.ч. активизации нейрогенеза (PARP-1; XRCC1; ДНК-лигаза III α ; ДНК-полимераза β , ERCC2, ДНК-зависимая протеинкиназа, белки MAPK, ERK);
- постишемического нейровоспаления;
- терапевтических молекулярных мишеней для предотвращения или уменьшения степени выраженности последствий асфиксии (блокаторы межклеточных каналов, ингибиторы апоптоза, рецепторы к факторам роста);
- влияния гипотермии при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС [41–43].

К основным недостаткам описываемой модели относятся трудности, связанные с определением точного гестационного возраста крыс, а также высокую летальность животных.

МОДЕЛИ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Гипоксическая ишемия. Эта модель является одной из наиболее часто используемых. В литературе обычно встречаются синонимы «модель по Rice» и «модель Rice–Vanucci». Впервые была предложена в 1961 г. [44], позже доработана [45] и применяется до настоящего времени для изучения патогенеза, особенностей межклеточных взаимодействий, улучшения диагностики, прогнозирования исходов, а также разработки новых подходов к терапии перинатального гипоксически-ишемического повреждения ЦНС [46–50]. Техника получения модели состоит в постоянной окклюзии одной общей сонной артерии у семисуточных крыс с последующим помещением их в атмосферу с низким содержанием кислорода (не более 8%).

Одним из вариантов гипоксической ишемии является метод с двухсторонней окклюзией общих сонных артерий и помещением крыс в атмосферу с низким содержанием кислорода [51]. В целом модель гипоксической ишемии сочетает в себе элементы как гипоксии, так и ишемии, что соответствует этиопатогенезу перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС. Модель проста в получении, имеет хорошую воспроизводимость морфологических изменений тканей мозга. Обычно гипоксическую ишемию применяют для кратковременных экспериментов по изучению эффективности нейротропиков на ранних сроках после гипоксически-ишемического воздействия.

Однако данная модель не воспроизводит переходящих нарушений мозгового кровообращения, т.к. отсутствует поражение средней мозговой артерии, что наблюдается при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС у человека и, таким образом, не является в полной мере адекватной [52]. Кроме того, особенности кровоснабжения мозга крыс (наличие двух вертебральных артерий), вероятно, не позволяют эффективно инициировать патологические изменения, а само оперативное вмешательство может привести к частичному повреждению головного мозга. Еще одним недостатком модели является большой объем поражения мозга и высокая летальность животных в первые часы моделирования патологии.

Двухсосудистая окклюзия общих сонных артерий и гипотензия. Особенности методики заключаются в выполнении двухсторонней окклюзии общих сонных артерий с одновременным снижением артериального давления различными способами (управляемое кровотечение или медикаментозная гипотония) [53–55]. При этом в основном наблюдают повреждение гиппокампа. Двухсосудистая окклюзия с гипотензией оптимально подходит для изучения последствий перенесенной гипоксии-ишемии, эффекта реперфузии, особенностей восстановительного периода. С использованием этой модели изучены особенности фосфолипидного и энерге-

тического метаболизма, действия нейротрансмиттеров, морфологические изменения вследствие ишемии, влияние различных температурных режимов на исходы перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС [20, 56]. Сложность определяется необходимостью точного контроля системного артериального давления, длительности ишемии, температуры тела, использования определенного режима анестезии, а также надлежащего послеоперационного ухода. Существенный недостаток двухсосудистой окклюзии с гипотензией заключается в том, что при системной гипотонии развиваются генерализованные метаболические нарушения в жизненно важных органах, включая мозг.

Четырехсосудистая окклюзия (общих сонных и позвоночных) артерий. Техника выполнения указанной модели заключается в одновременной окклюзии позвоночных и общих сонных артерий с обеих сторон. Окклюзия может быть постоянной или временной. Как правило, указанная модель выполняется в два этапа и технически является более сложной по сравнению с двухсосудистой окклюзией. Четырехсосудистая окклюзия лучше всего подходит для изучения поражения коры, ствола, гиппокампа, полосатого тела головного мозга, особенностей метаболизма при выполнении анестезиологических пособий, а также эффектов лекарственных веществ. Модель позволяет исследовать отдаленные исходы, нарушения поведенческих реакций и памяти. Основными недостатками четырехсосудистой окклюзии являются глубокий травматический хирургический доступ, двухэтапность выполнения модели, вероятность неполной окклюзии позвоночных артерий, риск массивного кровотечения и высокой летальности животных, а также низкая воспроизводимость результатов [57–59].

Несмотря на то, что основные принципы моделирования перинатальной гипоксически-ишемической патологии ЦНС предложены давно, продолжают их активное изучение, оптимизация и техническое усовершенствование. В настоящее время предложена модель [60] гипоксически-ишемического повреждения головного мозга без использования хирургических вмешательств у животных. Авторы провели сравнение модели с классической гипоксией-ишемией методом Rice [44]. Экспериментальные животные (семисуточные крысята) были разделены на три группы: 1) контрольная группа — ложнооперированные животные; 2) группа сравнения — моделирование гипоксически-ишемического поражения ЦНС методом Rice; 3) опытная группа — нахождение в атмосфере с низким содержанием кислорода (8%) на 1,5 ч без дополнительных вмешательств на сосудах. Неврологические нарушения, динамика восстановления нервно-рефлекторной деятельности, гистологическая картина головного мозга на 1, 3 и 21-е сут эксперимента, активность креатинкиназы, лактатдегидрогеназы, медиаторов воспаления — фактора некроза опухоли α , интерлейкина 1β , металлопротеиназы (ММР 9) у животных опытной группы и группы сравнения были сопоставимы, отличаясь от контроля. Выраженность апоптоза (число TUNEL-позитивных клеток, экспрессия c-fos и p-ERK в ткани головного мозга) в обеих группах статистически значимо отли-

чалась от группы контроля, но была сопоставима между собой.

Новая модель имеет ряд преимуществ: процедура моделирования более простая, дешевая и быстрая, менее инвазивная и менее травматичная для животных. При этом основные клинические, биохимические, морфологические и гистологические изменения соответствуют гипоксически-ишемическим поражениям ЦНС у человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время для создания глобальной церебральной гипоксии-ишемии существуют различные модификации моделей, которые отличаются сложностью выполнения, воспроизводимостью результатов, преимущественным поражением тех или иных отделов мозга.

В целом это позволяет исследователям выбрать наиболее адекватную модель перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС. Рассмотренные модели перинатального гипоксически-ишемического поражения головного мозга позволяют исследовать отдельные механизмы развития заболевания, репарации, нейропротекции, методы предупреждения, диагностики, прогнозирования исходов и лечения, в т.ч. на молекулярном и генетическом уровне. Однако необходимо понимать, что не вся информация о возможностях нейропротекции и терапии, полученная *in vivo*, может быть экстраполирована на человека, т.к. в настоящее время нет ни одной идеальной экспериментальной модели, которая полностью имитирует патологию человека.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14-25-00054).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов А.А. Сокращение предотвратимых потерь здоровья детского населения — стратегия социальной педиатрии. *Вопросы современной педиатрии*. 2008; 7 (4): 6–8.
2. Неонатология. Национальное руководство. Под ред. Н.Н. Володина. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009. 848 с.
3. Лебедев С.В., Карасёв А.В., Рогаткин С.О., Володин Н.Н., Чехонин В.П. Проблемы и перспективы экспериментального моделирования перинатальных гипоксически-ишемических повреждений центральной нервной системы. *Вестник РАМН*. 2009; 2: 21–25.
4. Fatemi A., Wilson M.A., Johnston M.V. Hypoxic-ischemic encephalopathy in the term infant. *Clin. Perinatol*. 2009; 36 (4): 835–858.
5. Semple B.D., Blomgren K., Gimlin K., Ferriero D.M., Noble-Haeusslein L.J. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Prog. Neurobiol*. 2013; 106–107: 1–16.
6. Rees S., Harding R., Walker D. The biological basis of injury and neuroprotection in the fetal and neonatal brain. *Int. J. Dev. Neurosci*. 2011; 29 (6): 551–563.
7. Traudt C.M., McPherson R.J., Bauer L.A., Richards T.L., Burbacher T.M., McAdams R.M., Juul S.E. Concurrent erythropoietin and hypothermia treatment improve outcomes in a term nonhuman primate model of perinatal asphyxia. *Dev. Neurosci*. 2013; 35 (6): 491–503.
8. Ni X., Yang Z.J., Wang B., Carter E.L., Larson A.C., Martin L.J., Koehler R.C. Early antioxidant treatment and delayed hypothermia after hypoxia-ischemia have no additive neuroprotection in newborn pigs. *Anesth. Analg*. 2012; 115 (3): 627–637.
9. Alonso-Alconada D., Hilario E., Alvarez F.J., Alvarez A. Apoptotic cell death correlates with ROS overproduction and early cytokine expression after hypoxia-ischemia in fetal lambs. *Reprod. Sci*. 2012; 19 (7): 754–763.
10. Derrick M., Drobyshevsky A., Ji X., Chen L., Yang Y., Ji H., Silverman R.B., Tan S. Hypoxia-ischemia causes persistent movement deficits in a perinatal rabbit model of cerebral palsy: assessed by a new swim test. *Int. J. Dev. Neurosci*. 2009; 27 (6): 549–557.
11. Charriaut-Marlangue C., Bonnin P., Leger P.L., Renolleau S. Brief update on hemodynamic responses in animal models of neonatal stroke and hypoxia-ischemia. *Exp. Neurol*. 2013; 248: 316–320.

12. Northington F.J. Brief update on animal models of hypoxic-ischemic encephalopathy and neonatal stroke. *ILAR J*. 2006; 47 (1): 32–38.
13. Vannucci R.C., Vannucci S.J. Perinatal hypoxic-ischemic brain damage: evolution of an animal model. *Dev. Neurosci*. 2005; 27 (2–4): 81–86.
14. Scremin O.U. Cerebral Vascular System. In: *The Rat Nervous System* (3rd Edn). G. Paxinos (ed.). NY: Academic Press. 2004. P. 1167–1202.
15. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. М.: МЕДпресс-Информ. 2013. 288 с.
16. Барашнев Ю.И. Перинатальная неврология. М.: Триада-Х. 2011. 672 с.
17. Clancy B., Finlay B.L., Darlington R.B., Anand K.J. Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology*. 2007; 28 (5): 931–937.
18. Kabat H., Dennis C., Baker A.B. Recovery of function following arrest of the brain circulation. *Am. J. Physiol*. 1941; 132: 737–747.
19. Scheller M.S., Grafe M.R., Zornow M.H., Fleischer J.E. Effects of ischemia duration on neurological outcome, CA1 histopathology, and nonmatching to sample learning in monkeys. *Stroke*. 1992; 23: 1471–1476.
20. Suchadolskiene O., Pranskunas A., Baliutyte G., Veikutis V., Dambrauskas Z., Vaitkaitis D., Borutaite V. Microcirculatory, mitochondrial, and histological changes following cerebral ischemia in swine. *BMC Neurosci*. 2014; 15: 2.
21. Lowry O.H., Passonneau J.V., Hasselberger F.X., Schulz D.W. Effect of ischemia on known substrates and cofactors of the glycolytic pathway in brain. *J. Biol. Chem*. 1964; 249: 18–30.
22. Gerasimov V.D., Artemenko D.P., Krishtal O.A. Therapeutic time window for the neuroprotective action of MK-801 after decapitation ischemia: hippocampal slice data. *Brain Res*. 2004; 1017 (1–2): 92–97.
23. Berkowitz I.D., Gervais H., Schleien C.L., Koehler R.C., Dean J.M., Traystman R.J. Epinephrine dosage effects on cerebral and myocardial blood flow in an infant swine model of cardiopulmonary resuscitation. *Anesthesiology*. 1991; 75: 1041–1050.
24. Eleff S.M., Maruki Y., Monsein L.H., Traystman R.J., Bryan R.N., Koehler R.C. Sodium, ATP, and intracellular pH transients during reversible complete ischemia of dog cerebrum. *Stroke*. 1991; 22: 233–241.

25. Jiang J., Fang X., Fu Y., Xu W., Jiang L., Huang Z. Impaired cerebral mitochondrial oxidative phosphorylation function in a rat model of ventricular fibrillation and cardiopulmonary resuscitation. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 192769.
26. Dave K.R., Della-Morte D., Saul I., Prado R., Perez-Pinzon M.A. Ventricular fibrillation-induced cardiac arrest in the rat as a model of global cerebral ischemia. *Transl Stroke Res.* 2013; 4 (5): 571–578.
27. Safar P., Abramson N.S., Angelos M., Cantadore R., Leonov Y., Levine R., Pretto E., Reich H., Sterz F., Stezoski S.W. Emergency cardiopulmonary bypass for resuscitation from prolonged cardiac arrest. *Am. J. Emerg. Med.* 1990; 8: 55–67.
28. Kofler J., Hurn P.D., Traystman R.J. SOD1 overexpression and female sex exhibit region-specific neuroprotection after global cerebral ischemia due to cardiac arrest. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2005; 25 (9): 1130–1137.
29. Noppens R.R., Kofler J., Hurn P.D., Traystman R.J. Dose-dependent neuroprotection by 17beta-estradiol after cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation. *Crit. Care Med.* 2005; 33 (7): 1595–1602.
30. Han X., Aenlle K.K., Bean L.A., Rani A., Semple-Rowland S.L., Kumar A., Foster T.C. Role of estrogen receptor α and β in preserving hippocampal function during aging. *J. Neurosci.* 2013; 33 (6): 2671–2683.
31. Manole M.D., Kochanek P.M., Foley L.M., Hitchens T.K., Bayir H., Alexander H., Garman R., Ma L., Hsia C.J., Ho C., Clark R.S. Polynitroxyl albumin and albumin therapy after pediatric asphyxial cardiac arrest: effects on cerebral blood flow and neurologic outcome. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012; 32 (3): 560–569.
32. Follis F., Miller K., Scremin O.U., Pett S., Kessler R., Wernly J. NMDA receptor blockade and spinal cord ischemia due to aortic crossclamping in the rat model. *Can. J. Neurol. Sci.* 1994; 21 (3): 227–232.
33. Takahashi M., Iwatsuki N., Ono K., Tajima T., Akama M., Koga Y. Hyperbaric oxygen therapy accelerates neurologic recovery after 15-minute complete global cerebral ischemia in dogs. *Crit. Care Med.* 1992; 20 (11): 1588–1594.
34. Dell'Anna M.E., Calzolari S., Molinari M., Iuvone L., Calimici R. Neonatal anoxia induces transitory hyperactivity, permanent spatial memory deficits and CA1 cell density reduction in developing rats. *Behav. Brain Res.* 1991; 45 (2): 125–134.
35. Herrera-Marschitz M., Morales P., Leyton L., Bustamante D., Klawitter V., Espina-Marchant P., Allende C., Lisboa F., Cunich G., Jara-Cavieles A., Neira T., Gutierrez-Hernandez M.A., Gonzalez-Lira V., Simola N., Schmitt A., Morelli M., Andrew Tasker R., Gebicke-Haerter P.J. Perinatal asphyxia: current status and approaches towards neuroprotective strategies, with focus on sentinel proteins. *Neurotox. Res.* 2011; 19 (4): 603–627.
36. Dubovicky M., Kovacovsky P., Ujhazy E., Navarova J., Brucknerova I., Mach M. Evaluation of developmental neurotoxicity: some important issues focused on neurobehavioral development. *Interdisc. Toxicol.* 2008; 1 (3–4): 206–210.
37. Mach M., Dubovicky M., Navarova J., Brucknerova I., Ujhazy E. Experimental modeling of hypoxia in pregnancy and early postnatal life. *Interdiscip. Toxicol.* 2009; 2 (1): 28–32.
38. Chahboune H., Ment L.R., Stewart W.B., Rothman D.L., Vaccarino F.M., Hyder F., Schwartz M.L. Hypoxic injury during neonatal development in murine brain: correlation between in vivo DTI findings and behavioral assessment. *Cereb. Cortex.* 2009; 19 (12): 2891–2901.
39. Fagel D.M., Ganat Y., Silbereis J., Ebbitt T., Stewart W., Zhang H., Ment L.R., Vaccarino F.M. Cortical neurogenesis enhanced by chronic perinatal hypoxia. *Exp. Neurol.* 2006; 199: 77–91.
40. Чехонин В.П., Лебедев С.В., Володин Н.Н., Блинов Д.В., Петров С.В., Рогаткин С.О. Экспериментальное моделирование перинатального гипоксически-ишемического поражения мозга. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* 2002; 1 (2): 9–16.
41. Lubec B., Dell'Anna E., Fang-Kircher S., Marx M., Herrera-Marschitz M., Lubec G. Decrease of brain protein kinase C, protein kinase A, and cyclin-dependent kinase correlating with pH precedes neuronal death in neonatal asphyxia. *J. Investig. Med.* 1997; 45 (5): 284–294.
42. Morales P., Bustamante D., Espina-Marchant P., Neira-Pena T., Gutierrez-Hernandez M.A., Allende-Castro C., Rojas-Mancilla E. Pathophysiology of perinatal asphyxia: can we predict and improve individual outcomes? *EPMA J.* 2011; 2 (2): 211–230.
43. Chen Y., Engidawork E., Loidl F., Dell'Anna E., Goiny M., Lubec G., Andersson K., Herrera-Marschitz M. Short- and long-term effects of perinatal asphyxia on monoamine, amino acid and glycolysis product levels measured in the basal ganglia of the rat. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 1997; 104: 19–30.
44. Levine S. Anoxic-ischemic encephalopathy in rats. *Am. J. Pathol.* 1960; 36: 1–17.
45. Rice J., Vannucci R., Brierley J. The influence of immaturity on hypoxia-ischemic brain damage in the rat. *Ann. Neurol.* 1981; 9: 131–141.
46. Салмина А.Б., Окунева О.С., Таранушенко Т.Е., Фурсов А.А., Прокопенко С.В., Михуткина С.В., Малиновская Н.А., Тагаева Г.А. Роль нейрон-астроглиальных взаимодействий в дизрегуляции энергетического метаболизма при ишемическом перинатальном поражении головного мозга. *Анналы неврологии.* 2008; 2 (3): 44–52.
47. Lee J.C., Park J.H., Park O.K., Kim I.H., Yan B.C., Ahn J.H., Kwon S.H., Choi J.H., Kim J.D., Won M.H. Neuroprotective effects of tanshinone I from Danshen extract in a mouse model of hypoxia-ischemia. *Anat. Cell Biol.* 2013; 46 (3): 183–190.
48. Sampath D., White A.M., Raol Y.H. Characterization of neonatal seizures in an animal model of hypoxic-ischemic encephalopathy. *Epilepsia.* 2014; 55 (7): 985–993.
49. Wassink G., Gunn E.R., Drury P.P., Bennet L., Gunn A.J. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. *Front. Neurosci.* 2014; 8: 40.
50. Li S.J., Liu W., Wang J.L., Zhang Y., Zhao D.J., Wang T.J., Li Y.Y. The role of TNF- α , IL-6, IL-10, and GDNF in neuronal apoptosis in neonatal rat with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2014; 18 (6): 905–909.
51. Hattori H., Morin A., Schwartz P., Fujikawa D., Wasterlain C. Posthypoxic treatment with MK-801 reduces hypoxic-ischemic damage in the neonatal rat. *Neurology.* 1989; 39: 713–718.
52. Koelfen W., Freund M., Varnholt V. Neonatal stroke involving the middle cerebral artery in term infants: clinical presentation, EEG and imaging studies, and outcome. *Dev. Med. Child Neurol.* 1995; 37: 204–212.
53. Smith M.L., Bendek G., Dahlgren N., Rosen I., Wieloch T., Siesjo B.K. Models for studying long-term recovery following forebrain ischemia in the rat. A 2-vessel occlusion model. *Acta Neurol. Scand.* 1984; 69: 385–401.
54. Sanderson T.H., Wider J.M. 2-vessel occlusion/hypotension: a rat model of global brain ischemia. *J. Vis. Exp.* 2013; 76. Doi: 10.3791/50173.
55. Onken M., Berger S., Kristian T. Simple model of forebrain ischemia in mouse. *J. Neurosci. Methods.* 2012; 204 (2): 254–261.
56. Traystman R.J. Animal models of focal and global cerebral ischemia. *ILAR J.* 2003; 44 (2): 85–95.
57. Pulsinelli W.A., Buchan A.M. The four-vessel occlusion rat model: method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. *Stroke.* 1988; 19 (7): 913–914.
58. Allen B.S., Ko Y., Buckberg G.D., Sakhai S., Tan Z. Studies of isolated global brain ischaemia: I. A new large animal model of global brain ischaemia and its baseline perfusion studies. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2012; 41 (5): 1138–1146.
59. Valerio Romanini C., Dias Fiuzza Ferreira E., Correia Bacarin C., Verussa M.H., Weffort de Oliveira R.M., Milani H. Neurohistological and behavioral changes following the four-vessel occlusion/internal carotid artery model of chronic cerebral hypoperfusion: comparison between normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Behav. Brain Res.* 2013; 252: 214–221.
60. Zhang Q., Ding Y., Yao Y., Yu Y., Yang L., Cui H. Creating rat model for hypoxic brain damage in neonates by oxygen deprivation. *PLoS One.* 2013; 8 (12): 83589. Doi: 10.1371/journal.pone.0083589. eCollection 2013.