

ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

Ежемесячный научно-теоретический журнал

ОСНОВАН В 1946 г.

Главный редактор Н. П. БОЧКОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Т. Т. БЕРЕЗОВ, Ю. Е. ВЕЛЬТИЩЕВ, С. И. ГАВРИЛОВА, В. К. ГОСТИШЕВ, А. Д. ДУРНЕВ
(зам. гл. редактора), Ф. И. ЕРШОВ, Н. Ф. ИЗМЕРОВ, В. А. НАГОРНЕВ, Е. Л. НАСОНОВ,
Н. А. ОНИЩЕНКО, Н. Р. ПАЛЕЕВ, М. А. ПАЛЬЦЕВ, Ю. А. ПАНКОВ, Л. А. ПЕВНИЦКИЙ
(отв. секретарь), В. Н. РАКИТСКИЙ, А. Н. СТРИЖАКОВ, К. В. СУДАКОВ, В. А. ТРУФАКИН,
О. Н. ЮДЕНИЧ, Н. Н. ЯХНО (зам. гл. редактора)

Научные редакторы: В. И. КАНДРОР, Ю. В. НЕСВИЖСКИЙ

2

2009



ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009
 УДК 616.831-008.922.1-008.64-02:616.1]-053.31

С. В. Лебедев, А. В. Карасев, С. О. Рогаткин, Н. Н. Володин, В. П. Чехонин

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ПЕРИНАТАЛЬНЫХ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

ФГУ Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В. П. Сербского; Российский государственный медицинский университет, Москва

Перинатальные гипоксически-ишемические повреждения головного мозга (ПГИПГМ) относятся к основным причинам смерти новорожденных. По разным данным, до 72% новорожденных, перенесших тяжелую гипоксию-ишемию в перинатальном периоде, имеют психоневрологический дефицит различной степени тяжести, а примерно у 25% формируются устойчивые расстройства в виде задержки умственного и двигательного развития, детского церебрального паралича, эпилепсии и др. с последующей инвалидностью с детства [1—5].

Начиная с 60-х годов прошлого столетия в развитых странах наблюдается так называемая перинатальная революция, в результате которой произошло резкое снижение перинатальной смертности с 20% в 60-х годах до 3—4% в настоящее время. Такой прогресс достигнут в результате внедрения в медицинскую практику действенных форм и методов контроля беременности, родов и совершенствования помощи новорожденным групп риска. Вместе с тем эффективной терапии гипоксически-ишемических повреждений в перинатальном периоде до сих пор не существует, прежде всего из-за недостаточно изученных тонких механизмов ПГИПГМ [4]. Имеются практически непреодолимые этические и методологические ограничения для исследований патогенеза повреждений центральной нервной системы (ЦНС) плода и новорожденного ребенка [6]. В частности, сложность заключается в том, что в силу существенных структурных и функциональных различий практически невозможна экстраполяция на новорожденного ребенка достаточно хорошо изученных механизмов гипоксически-ишемического поражения ЦНС у взрослых, как и абсолютно недопустима апробация новых средств лечения на ограниченной группе таких пациентов, что нередко практикуется у взрослых. Поэтому разумной альтернативой является стратегия углубленного исследования патогенеза ПГИПГМ на животных моделях с обязательным учетом нейробиологических особенностей развивающегося мозга [4, 5].

Центральным методологическим вопросом экспериментального моделирования ПГИПГМ является степень адекватности возрастной морфофункциональной организации мозга лабораторного животного объекту моделирования, т. е. мозгу плода и новорожденного. J. Dobbing и J. Sands [7] сравнили показатели прироста массы целого мозга до и после рождения у человека и у нескольких видов млекопитающих, используемых при моделировании ПГИПГМ. У человека "пик" прироста массы мозга совпадает с моментом рождения, у овцы и обезьяны он наблюдается до момента рождения, а у крысы, кролика и свиньи — после рождения, т. е. формирование мозга у различных животных или существенно опережает формирование мозга у человека или отстает от него (рис. 1).

Особенности развития головного мозга у лабораторных животных

Кроме того, B. Clancy, R. Darlington, B. Finlay убедительно показали, что формирование отдельных структур мозга у человека существенно опережает таковое у животных (рис. 2) [8]. Из представленных данных следует, что у грызунов, наиболее часто используемых при моделировании ПГИПГМ, "пики" морфогенеза отдельных анатомических структур головного мозга существенно сдвинуты во времени к моменту рождения. По-видимому, можно предполагать, что и период их функционального созревания относительно короче, чем у человека.

Представленные выше данные свидетельствуют о том, что адекватное сопоставление временных периодов у лабораторных животных и человека весьма затруднительно. Например, считают [9], что головной мозг крысы в возрасте 7 дней по организации слоев коры, фактам исчезновения герминативного матрикса и начала миелинизации соответствует мозгу человека 32—

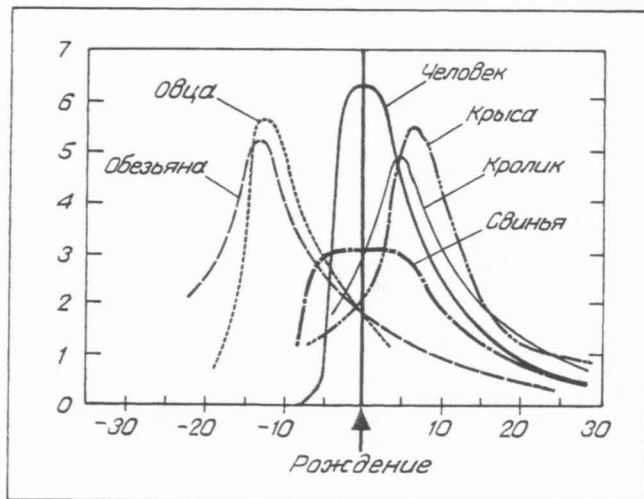


Рис. 1. Различия в приросте массы головного мозга относительно момента рождения у человека и некоторых видов млекопитающих.

По оси абсцисс — время (в усл. ед.); по оси ординат — прирост массы головного мозга по отношению к массе тела (в %). Одна единица шкалы времени составляет для человека 30 сут, для крысы, морской свинки — 1 сут, для кролика — 2 сут, для обезьяны — 4 сут, для овцы — 5 сут, для свиньи — 7 сут.

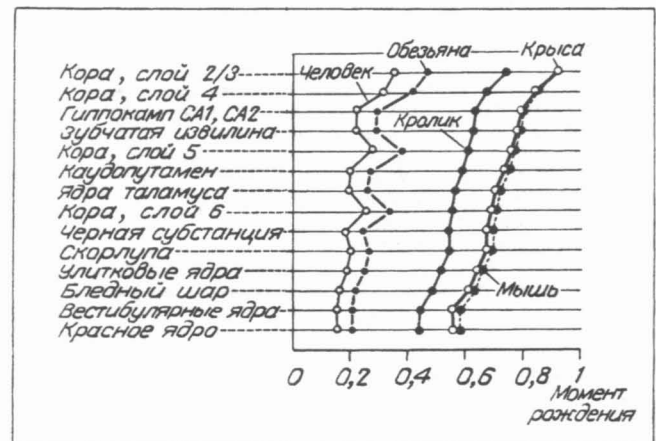


Рис. 2. Различия в максимальном приросте массы отдельных структур головного мозга у млекопитающих (адаптировано по данным [17]).

По оси абсцисс — время (в отн. ед.); по оси ординат — структуры головного мозга.

34 нед гестации. Однако по морфологическим критериям [8] этот возраст крыс соответствует 25—28-недельному сроку гестации человека (начало III триместра), т. е. может рассматриваться как мозг глубоко недоношенного ребенка. С. Zhu и соавт. соотносят мышью 5-дневного возраста с недоношенностью, 9-дневного — с доношенностью, 21-дневного — с ювенильным периодом, а возраст мыши 60 дней — со степенью зрелости мозга взрослого человека [10].

Необходимость учета временных периодов относительно момента родов при моделировании ПГИПГМ обусловлена существенными отличиями реакций нервной ткани на гипоксически-ишемическое воздействие у плода, новорожденного и взрослой особи. Они касаются устойчивости к гипоксии, эксайтотоксических реакций, механизмов апоптоза, оксидативного стресса и природы вторичных повреждений ткани мозга, обусловленных в свою очередь особенностями метаболизма нервной ткани мозга, неполной миелинизацией, незрелостью многих рецепторных систем и морфофункциональной организации гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [2, 5, 11, 12].

Этиопатогенетические факторы, воспроизводимые при экспериментальном моделировании ПГИПГМ

Основными причинами ПГИПГМ считаются: нарушение (недостаточность) маточно-плацентарного и/или фетоплацентарного кровотока; постнатальная дыхательная недостаточность (респираторный дистресс-синдром, приступы апноэ, пневмония или аспирационный синдром); сердечная недостаточность; постнатальные нарушения системной гемодинамики (резкое падение артериального давления, снижение церебральной перфузии). Ведущими звеньями патогенеза ПГИПГМ являются гипоксия и ишемия ткани мозга, феномен реперфузии в очагах повреждения, эксайтотоксичность, энергетический коллапс, оксидативный стресс на клеточном уровне. В итоге эти процессы приводят к ранней или отсроченной гибели нервных клеток [2, 4].

В зависимости от вариантов сочетания характера, длительности и других условий действия патогенных факторов в ткани мозга новорожденного ребенка развивается весьма гетерогенная патоморфологическая картина гипоксически-ишемических поражений нервной ткани. Это, в частности, ишемический и геморрагический инсульты, диффузная гибель нейронов, фокальный и мультифокальный некроз ткани мозга, парасагиттальный некроз коры и подкоркового белого вещества, перивентрикулярная лейкомаляция, внутрижелудочковые и перивентрикулярные кровоизлияния. При выраженном гипоксически-ишемическом поражении незрелого мозга чаще возникают очаговые поражения в базальных ганглиях и коре мозга [2, 12, 13].

Естественно, что клиника перинатальных гипоксически-ишемических поражений ЦНС у человека и животных несопоставима в силу понятных кардинальных различий этих биологических видов. Исходом ПГИПГМ и у человека, и у лабораторных животных является развитие психоневрологического дефицита. Существует несколько наиболее часто встречающихся клинических синдромов, в частности синдром угнетения, возбуждения, детский церебральный паралич, минимальная мозговая дисфункция, перивентрикулярная лейкомаляция, перивентрикулярные кровоизлияния [2, 14]. При этом авторы различных клинических классификаций ПГИПГМ выделяют различные степени тяжести и/или стадии повреждения ЦНС ребенка [2, 15—18]. В связи с этим очевидно, что при моделировании ПГИПГМ важно добиться не формального сходства клинических проявлений, а максимального тождества основных механизмов развития гипоксически-ишемического повреждения у экспериментальных животных и человека при учете изложенных выше основных этиопатогенетических и патоморфологических характеристик ПГИПГМ.

Модели ПГИПГМ и проблема их адекватности клинической картине

Животные модели ПГИПГМ являются предметом анализа и обобщения многих обзоров [6, 19, 20—23]. Первые экспериментальные исследования ПГИПГМ проведены на обезьянах в 50—70-х годах прошлого столетия [24, 25]. Несмотря на то что модели на крупных животных, возможно, более адекватны клинике ПГИПГМ у человека, однако они имеют высокую стоимость и этические ограничения [4]. В дальнейшем для моделирования перинатальной церебральной патологии стали использовать кошек, кроликов, овец, свиней, но чаще всего крыс и мышей. Это обусловлено экономическими и утилитарными

преимуществами реализации экспериментальных моделей, но главным образом тем, что между грызунами и высшими млекопитающими имеется достаточно сильное сходство в церебральном кровоснабжении и биологии нервных клеток [9, 26].

Животные модели ПГИПГМ, чаще называемые в иностранной литературе моделями асфиксии, воспроизводятся в основном путем ограничения нормального кровоснабжения мозга плода (новорожденного) — постоянной или временной окклюзии сонной и/или средней мозговой артерии и комбинации таких манипуляций с гипоксической гипоксией в виде экспозиции животных в течение нескольких часов в камере с низким содержанием кислорода. С помощью временной окклюзии мозговых артерий достигается создание феномена реперфузии ткани мозга и "планируемый" объем очагов повреждения.

Достаточно широкий спектр возможных вариантов сочетания гипоксии и ишемии в ante-, intra- и неонатальном периоде позволяет получать различные по выраженности и распространности повреждения ткани мозга, патогномоничные основным клинико-морфологическим синдромам ПГИПГМ. Единой классификации моделей ПГИПГМ нет. Мы сгруппировали все известные животные модели ПГИПГМ по трем типичным видам нейроморфологических изменений в головном мозге с учетом времени гипоксически-ишемического воздействия: до рождения, во время и после родов (см. таблицу).

1-я группа моделей ассоциируется с тяжелыми клиническими поражениями мозга, для которых характерны глобальные и/или полусферные изменения в виде сочетания диффузной гибели клеток, зон некроза в стриатуме, гипоталамусе, неокортексе, в подкорковом и перивентрикулярном белом веществе мозга. Во 2-й группе моделей воспроизводится локальный ишемический инсульт новорожденных, считающийся одним из наиболее частых проявлений перинатальной патологии. Преимущественное повреждение белого вещества, в частности патогномоничное перивентрикулярной лейкомаляции, достигается с помощью моделей 3-й группы (см. таблицу).

Для оценки изменений нервной ткани при моделировании ПГИПГМ применяют стандартные морфологические и гистохимические методы, верифицирующие локализацию, характер и распространенность повреждений нервных клеток, их эволюцию — некроз, апоптоз, микроглиальную инфильтрацию, астроглиоз вокруг некротической зоны и последующее образование рубцовых изменений [56—59]. К информативным методам выявления гипоксического повреждения нервных клеток относятся определение доли некротических нейронов в зонах CA1, CA2 гиппокампа и клеток Пуркинье в мозжечке [9, 36, 60], а также анализ концентраций нейроспецифических белков в сыворотке крови и ликворе иммунохимическими методами [61, 62]. Атрофия нервной ткани у животных с ПГИПГМ четко выявляется с помощью измерения объемов полушарий мозга [57, 63, 64]. С целью прижизненной нейровизуализации применяют магнитно-резонансную томографию головного мозга [43, 45, 65] и ЭЭГ [66].

Интегральная оценка степени нарушений функций ЦНС включает: определение неврологического статуса, выявление нарушений движений и координации с помощью аппаратов ротарод и тредбан [64], измерение выносливости (тест повисания на проволоке) [3], исследования высшей нервной деятельности в "открытом поле", водном лабиринте Морриса [39, 64, 67], Т-образном лабиринте [39, 57], в тесте пассивного избегания [3] и др. Помимо перечисленных, имеется ряд тестов, информативных для характеристики состояния животных раннего возраста, в частности для периода питания молоком матери и после отнятия от груди [39].

Экспериментаторы стремятся создать модель, максимально соответствующую причинам, условиям и механизмам развития ПГИПГМ. Однако имеется несколько принципиальных моментов, существенно ограничивающих возможности экстраполяции экспериментальных данных в клинику. Прежде всего это касается возможности достаточно точного воспроизведения на животных границ перинатального периода относительно момента рождения (см. раздел 1). Во всех животных моделях ПГИПГМ повреждение мозга осуществляют либо в постнатальном периоде при нормальных родах, либо в пренатальном периоде при отсутствии нормальных родов, тогда как у человека чаще гипоксия-ишемия возникает при патологии в родах. При осложненной беременности у человека гипоксия плода носит чаще хронический характер, как правило, из-за нарушения трофической функции плаценты и ряда других причин, упомянутых выше. Однако смоделировать хроническую гипоксию плода у лабораторных животных пока не удается.

Следует отметить несколько частных методических аспектов, касающихся адекватности моделирования ПГИПГМ. Так, доволь-

Модели перинатальных гипоксически-ишемических повреждений головного мозга

Период гипоксически-ишемического воздействия	Животные	Возраст, сут	Техника моделирования	Литература
<i>Диффузно-очаговые повреждения ткани мозга</i>				
Аntenатальный	Овцы	Е 93	Гипоксемия матери	27
	Овцы	Е 93	Окклюзия пупочного канатика 10 мин	28
		Е 133		29
	Овцы	Е 119—126	Окклюзия обеих ОСА 30 мин	30
	Кролики	Е 29	Окклюзия пупочного канатика 40 мин	31
		Предродовой период		32
	Крысы	Е 14—21	Помещение беременных в $p_aO_2 = 11$ кПа	33
	Кролики	67—70% срока гестации	Длительная глобальная гипоксия	31
Интранатальный	Обезьяны	Доношенные плоды	Клипирование пупочного канатика с обструкцией дыхательных путей	24, 25
	Крысы	Доношенные плоды	Извлечение плодов через 5—20 мин после гистерэктомии в последний день гестации	34
	Крысы	Р 7	Односторонняя перевязка ОСА с последующей экспозицией в атмосфере с 8% O_2	35
	Крысы	Р 7	Двусторонняя перевязка ОСА с последующей экспозицией в атмосфере с 6,5% O_2	36
	Крысы	Р 7	Односторонняя окклюзия СМА, перевязка ОСА на 60—90 мин	37
Неонатальный	Крысы	Р 1—2	Экспозиция в атмосфере 100% азота	38, 39
	Крысы	Р 7	Введение липополисахарида за 4—72 ч до воздействия гипоксии	40
	Крысы	Р 5, 10, 14, 25	Экспозиция при $p_aO_2 = 6,5$ кПа (9000 м)	33
	Мыши	Р 7	Односторонняя перевязка ОСА с последующей экспозицией в атмосфере 10% O_2 в течение 50 мин	11, 41
	Свиньи	Р 7	Обструкция дыхательных путей	42
	Свиньи	Р 0	Гипоксия в 8% кислороде 5—90 мин, временная окклюзия ОСА с двух сторон	43
	Крысы	Р 0	Индуктирование гидроцефалии введением в желудочки мозга каолина	44
<i>Фокальное повреждение ткани мозга (инсульт)</i>				
Неонатальный	Крысы	Р 7—18	Окклюзия СМА нитью на 3 ч	45, 46
	Крысы	Р 7	Постоянная окклюзия ОСА (лигатура) и временная окклюзия нитью СМА	37
	Крысы	Р 7	Постоянная окклюзия СМА нитью	47, 48
	Мыши	Р 7	Фототромбоз сосудов мягкой мозговой оболочки	49
<i>Избирательное повреждение белого вещества (преимущественно)</i>				
Аntenатальный	Крысы	Е 5—20	Гипоксия беременных крыс 10% O_2	50
	Морские свинки	3/4 срока гестации	Окклюзия пупочного канатика 30 мин	51
Неонатальный	Крысы	Р 7	Односторонняя перевязка ОСА с последующей экспозицией в атмосфере с 6% O_2 в течение 1 ч	52
	Крысы	Р 1—2	Односторонняя перевязка ОСА с последующей экспозицией в атмосфере с 6% O_2	53
	Крысы	Р 1—5	Перевязка обеих ОСА	54
	Крысы	Р 1	Инъекция крови в перивентрикулярное пространство	55

Примечание. Е — плоды, постконцептуальный возраст; Р — новорожденные, возраст с момента рождения; ОСА — общая сонная артерия; СМА — средняя мозговая артерия.

но часто применяемая при моделировании ПГИПГМ на животных односторонняя постоянная окклюзия магистральных мозговых сосудов у человека бывает крайне редко. В большинстве моделей ПГИПГМ ишемическое воздействие предшествует гипоксическому воздействию, а у человека эти процессы идут параллельно.

Одним из важнейших факторов, не исследованных при моделировании ПГИПГМ, является недоношенность плода. Вместе с тем различия в механизмах, патоморфологических и клинических проявлениях гипоксически-ишемических повреждений ЦНС у доношенных и недоношенных весьма существенны [2, 4, 14]. В частности, только у недоношенных причиной церебральных повреждений является открытый артериальный проток. Для них характерны перивентрикулярная лейкомаляция, перивентрикулярные и интравентрикулярные кровоизлияния, что практически не встречается у доношенных [38].

Анализ показывает, что при экспериментальном моделировании ПГИПГМ не удалось учесть риски, связанные с нарушениями родовой деятельности, болезнями матери, в частности

цереброваскулярные и системные сердечно-сосудистые расстройства, болезни эндокринной системы, имеющие важное значение в патогенезе повреждения нервной ткани плода в клинике. Нет также экспериментальной модели, адекватно имитирующей внутрижелудочковые кровоизлияния — нередкие геморрагические поражения мозга в клинике. Во многом остаются вне области моделирования ПГИПГМ тонкие механизмы гипоксически-ишемического повреждения нервной ткани, ассоциируемые с особенностями генома, транспортом биологически активных веществ, оксидативным стрессом, эксайтотоксичностью, состоянием ГЭБ, чувствительностью к нейротрофическим факторам, с воспалительными реакциями в ЦНС и др.

Перспективы развития экспериментального моделирования ПГИПГМ

В последние 5—6 лет обозначились несколько общих приоритетных подходов к экспериментальному моделированию

ПГИПГМ. Значительное количество исследований посвящено не созданию новых моделей, а модификации ранее разработанных моделей ПГИПГМ для различных видов животных с целью воспроизведения гипоксически-ишемического воздействия на ЦНС в ранний постнатальный период (1–2-й день после родов), поскольку именно в этот период на новорожденного действует максимальное количество патогенных факторов [6].

Актуальной является проблема изучения долгосрочных последствий ПГИПГМ в моделях на животных [22, 69]. Необходимость развития этого направления диктуется потребностями доклинических испытаний новых средств и методов лечения ПГИПГМ и нерешенными вопросами патогенеза хронической стадии ПГИПГМ. Однако новейших исследований в этой области относительно мало [3, 23, 70]. В частности, неизвестны причины прегрениентности течения данного заболевания, нарушений естественных репаративных потенций мозга, повышения проницаемости ГЭБ [62].

Дальнейшее совершенствование моделирования ПГИПГМ на лабораторных животных связывают с изучением тонких механизмов развития перинатального повреждения мозга. В частности, это:

— исследования восприимчивости незрелого мозга к эксайтотоксичности в остром периоде перинатальных повреждений, в частности, введение возбуждающих аминокислот (глутамат, аспарат и др.) крысам [71, 72] и мышам [73] до 10 постнатальных суток, а также генетически и иммунологически модифицированным мышам [74, 75];

— изучение роли цитокинов [75], тромбофильных факторов [74], кислородных радикалов [76] и активации микроглии [77] в эксайтотоксическом повреждении нервной ткани;

— исследования на трансгенных мышах нарушения функционирования индивидуальных белков при моделировании ПГИПГМ [41, 78–82];

— выявление корреляционных связей изменений в нервной ткани на молекулярном и клеточном уровнях с уровнями неврологического дефицита и расстройств ВВД [57].

Новым направлением является также разработка животных моделей, воспроизводящих нарушения физиологического нейроригистогенеза головного мозга в раннем онтогенезе, приводящие к стойким изменениям моторики и поведения. Такая технология основана на локальном повреждении нейротоксическими веществами определенных небольших групп нервных клеток головного мозга во время формирования межзональных нейрональных связей (нейроригистогенез) в пренатальном и раннем неонатальном периодах, в частности иботеновой кислотой и 3-бромовиллардином [83], каиновой кислотой [23], мусциолом [64], эндотелином-1 [66].

Заключение

История исследований ПГИПГМ на лабораторных животных насчитывает почти 50 лет. За это время разработан достаточно широкий спектр моделей ПГИПГМ, позволяющий получать различные по выраженности и распространенности гипоксически-ишемические повреждения ткани мозга. Однако достижения в области экспериментального изучения ПГИПГМ не привели еще к созданию моделей, достаточно адекватно учитывающих весь комплекс особенностей развивающегося мозга и этиопатогенетических факторов данной патологии у человека [6]. Для решения этой проблемы кроме совершенствования техники моделирования потребуется существенная интенсификация фундаментальных исследований нейробиологических особенностей развивающегося мозга и тонких механизмов ответных реакций нервной ткани на перинатальную гипоксию и ишемию. Вместе с тем потребности практики требуют расширения работ по моделированию отдаленных последствий ПГИПГМ, изучению причин хронизации постишемического нейродегенеративного процесса и механизмов репарации повреждений нервной ткани. Важнейшей задачей экспериментального моделирования ПГИПГМ остается разработка адекватных критериев доклинической оценки новейших средств терапии перинатальных повреждений ЦНС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Игнатьева Р. К. Перинатальные проблемы в России. М.: 2006.
2. Пальчик А. Б., Шабалов Н. П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. 2-е изд. М.: Мед-пресс информ; 2006.

3. Balduini W., De Angelis V., Mazzoni E., Cimino M. Long-lasting behavioral alterations following a hypoxic/ischemic brain injury in neonatal rats. *Brain Res.* 2000; 859: 318–325.
4. Johnston M. V., Hoon A. H. Cerebral palsy. *Neuromolecul. Med.* 2006; 8 (4): 435–450.
5. Vannucci S. J., Hagberg H. Hypoxia-ischemia in the immature brain. *J. Exp. Biol.* 2004; 207 (pt 18): 3149–3154.
6. Northington F. J. Brief update on animal models of hypoxic-ischemic encephalopathy and neonatal stroke. *ILAR J.* 2006; 47 (1): 32–38.
7. Dobbing J., Sands J. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum. Dev.* 1979; 3: 79–83.
8. Clancy B., Darlington R. B., Finlay B. L. Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience* 2001; 105 (1): 7–17.
9. Vanucci R. C., Vanucci S. J. A model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1997; 32: 234–249.
10. Zhu C., Xu F., Wang X. et al. Different apoptotic mechanisms are activated in male and female brains after neonatal hypoxia-ischemia. *J. Neurochem.* 2006; 96 (4): 1016–1027.
11. Ditelberg J. S., Sheldon R. A., Epstein C. J., Ferriero D. M. Brain injury after perinatal hypoxia-ischemia is exacerbated in copper/zinc super-oxide dismutase transgenic mice. *Pediatr. Res.* 1996; 39: 204–208.
12. Volpe J. J. Brain injury in the premature infant: neuropathology, clinical aspects, and prevention. *Clin. Perinatol.* 1997; 24: 567–588.
13. Johnston M. V., Goldstein G. W. Selective vulnerability of the developing brain to lead. *Curr. Opin. Neurol.* 1998; 11 (6): 689–693.
14. Бараашев Ю. И. Перинатальная неврология. М.: Триада-Х; 2001.
15. Буркова А. С., Володин Н. Н., Журба Л. Т. и др. Классификация перинатальных повреждений ЦНС: Метод. рекомендации. М.; 2005.
16. Якунин Ю. А., Ямпольская Э. И. Пернатальные и перинатальные поражения нервной системы. В кн.: Цукер М. Б. Клиническая невропатология детского возраста. М.: Медицина; 1986. 223–254.
17. Dubowitz L. M. S., Bydder G. M., Mushin J. Development sequences of periventricular leukomalacia. Correlation of ultrasound, clinical and nuclear magnetic resonance functions. *Arch. Dis. Child.* 1985; 60: 349–355.
18. Sarnat H. B., Sarnat M. S. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch. Neurol.* 1976; 33 (10): 696–705.
19. Ashwal S., Pearce W. J. Animal models of neonatal stroke. *Curr. Opin. Pediatr.* 2001; 13: 506–516.
20. Derugin N., Ferriero D. M., Vexler Z. Neonatal reversible focal cerebral ischemia: a new model. *Neurosci. Res.* 1998; 32: 349–353.
21. Hagberg H., Peebles D., Mallard C. Models of white matter injury: Comparison of infectious, hypoxic-ischemic, and excitotoxic insults. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 2002; 8: 30–38.
22. Roobey T., Raju T. N., Moustogiannis A. N. Animal models for the study of perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy: A critical analysis. *Early Hum. Dev.* 1997; 47: 115–146.
23. Yager J. Y. Animal models of hypoxic-ischemic brain damage in the newborn. *Semin. Pediatr. Neurol.* 2004; 11: 31–46.
24. Myers R. E. Two patterns of perinatal brain damage and their conditions of occurrence. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1972; 112: 246–276.
25. Ranck J. B., Windle W. F. Brain damage in the monkey, *Macaca mulatta*, by asphyxia neonatorum. *Exp. Neurol.* 1959; 1: 130–154.
26. Scremlin O. U. The rat cerebral vascular system. New York: Academic Press Inc.; 1995. 3–35.
27. Gleason C. A., Hamm C., Jones M. D. Effect of acute hypoxemia on brain blood flow and oxygen metabolism in immature fetal sheep. *Am. J. Physiol.* 1990; 258: H1064–H1069.
28. Lotering F. K., Bishai J. M., Struijk P. C. et al. Ten-minute umbilical cord occlusion markedly reduces cerebral blood flow and head production in fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2003; 189: 233–238.
29. Harris A. P., Helou S., Gleason C. A. et al. Fetal cerebral and peripheral circulatory responses to hypoxia after nitric oxide synthase inhibition. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001; 281: R381–R390.

30. Williams C. E., Gunn A. J., Synek B., Gluckman P. D. Delayed seizures occurring with hypoxic-ischemic encephalopathy in the fetal sheep. *Pediatr. Res.* 1990; 27: 561—565.
31. Derrick M., Luo N. L., Bregman J. C. et al. Preterm fetal hypoxia-ischemia causes hypertension and motor deficits in the neonatal rabbit: A model for human cerebral palsy? *J. Neurosci.* 2004; 24: 24—34.
32. Tan S., Bose R., Derrick M. Hypoxia-ischemia in fetal rabbit brain increases reactive nitrogen species production: Quantitative estimation of nitrotyrosine. *Free Radic. Biol. Med.* 2001; 30: 1045—1051.
33. Trojan S., Gross J. Perinatal hypoxia. Praha: Univesirsitas Carolina — pragensis; 1989.
34. Lubicz B., Kozlov A., Krapfenbauer K. et al. Nitric oxide and nitric oxide synthase in the early phase of perinatal asphyxia of the rat. *Neuroscience* 1999; 93 (3): 1017—1023.
35. Rice J. E., Vannucci R. C., Brierley J. B. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Ann. Neurol.* 1981; 9: 131—141.
36. Schwartz P. H., Massarweh W. F., Vinters H. V. et al. A rat model of severe neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Stroke* 1992; 23: 539—546.
37. Renolleau S., Aggoun-Zouanoul D., Ben-Ari Y., Charriaud-Marlange C. A model of transient unilateral focal ischemia with reperfusion in the P7 neonatal rat: Morphological changes indicative of apoptosis. *Stroke* 1998; 29: 1454—1460.
38. Dell'Anna M. E., Carlozari S., Molinari M. et al. Neonatal anoxia induces transitory hyperactivity, permanent spatial memory deficit and CA1 cell density reduction in developing rats. *Behav. Brain Res.* 1991; 45: 125—134.
39. Hoeger H., Engelmann M., Bernert G. et al. Long term neurological and behavioral effects of graded perinatal asphyxia in the rat. *Life Sci.* 2000; 66 (10): 947—962.
40. Eklind S., Mallard C., Arvidsson P., Hagberg H. Lipopolysaccharide induces both a primary and a secondary phase of sensitization in the developing rat brain. *Pediatr. Res.* 2005; 58: 112—116.
41. Hagberg H., Wilson M. A., Matsushita H. et al. PARP-1 gene disruption in mice preferentially protects males from perinatal brain injury. *J. Neurochem.* 2004; 90: 1068—1075.
42. Martin L. J., Brambrink A., Koehler R. C., Traystman R. J. Primary sensory and forebrain motor systems in the newborn brain are preferentially damaged by hypoxia-ischemia. *J. Comp. Neurol.* 1997; 377: 262—285.
43. McCulloch K. M., Raju T. N., Navale S. et al. Developing a long-term surviving piglet model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Neurol. Res.* 2005; 27 (1): 16—21.
44. Khan O. H., Enno T. L., Del Bigio M. R. Brain damage in neonatal rats following kaolin induction of hydrocephalus. *Exp. Neurol.* 2006; 200 (2): 311—320.
45. Derugin N., Ferriero D. M., Vexler Z. Neonatal reversible focal cerebral ischemia: a new model. *Neurosci. Res.* 1998; 32: 349—353.
46. Mitsufoji N., Yoshioka H., Okano S. et al. A new model of transient cerebral ischemia in neonatal rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1996; 16: 237—243.
47. Manabat C., Han B. H., Wendland M. et al. Reperfusion differentially induces caspase-3 activation in ischemic core and penumbra after stroke in immature brain. *Stroke* 2003; 34: 207—213.
48. Wen T. C., Rogido M., Gressens P., Sola A. A reproducible experimental model of focal cerebral ischemia in the neonatal rat. *Brain Res. Protocol* 2004; 13: 76—83.
49. Maxwell K. A., Dyck R. H. Induction of reproducible focal ischemic lesions in neonatal mice by photothrombosis. *Dev. Neurosci.* 2005; 27 (2—4): 121—126.
50. Baud O., Daire J. L., Dalmaç Y. et al. Gestational hypoxia induces white matter damage in neonatal rats: A new model of periventricular leukomalacia. *Brain Pathol.* 2004; 14: 1—10.
51. Lyng K., Munkeby B. H., Scheie D. et al. Fetal brain injury in experimental intrauterine asphyxia and inflammation in Göttingen minipigs. *J. Perinat. Med.* 2006; 34 (3): 226—234.
52. Follett P. L., Deng W., Dai W. et al. Glutamate receptor-mediated oligodendrocyte toxicity in periventricular leukomalacia: A protective role for topiramate. *J. Neurosci.* 2004; 24: 4412—4420.
53. Sheldon R. A., Sedik C., Ferriero D. M. Strain-related brain injury in neonatal mice subjected to hypoxia-ischemia. *Brain Res.* 1998; 810: 114—122.
54. Uehara H., Yoshioka H., Kawase S. et al. A new model of white matter injury in neonatal rats with bilateral carotid artery occlusion. *Brain Res. Rev.* 1999; 33: 213—220.
55. Balasubramaniam J., Del Bigio M. R., Xue M. A. Rat model of neonatal brain hemorrhage with persistent motor deficit: a potential model for human cerebral palsy. *Dev. Neurosci.* 2005; 27: 249—274.
56. Aden U., Dahlberg V., Fredholm B. et al. MRI evaluation and functional assessment of brain injury after hypoxic ischemia in neonatal mice. *Stroke* 2002; 33: 1405.
57. Almlí C. R., Levy T. J., Han B. H. et al. BDNF protects against spatial memory deficits following neonatal hypoxia-ischemia. *Exp. Neurol.* 2000; 166: 99—114.
58. Magavi S. S., Macklis J. D. Identification of newborn cells by BrdU labeling and immunocytochemistry in vivo. *Meth. Mol. Biol.* 2002; 198: 283—290.
59. Qiu L., Zhu C., Wang X. et al. Less neurogenesis and inflammation in the immature than in the juvenile brain after cerebral hypoxia-ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2007; 27 (4): 785—794.
60. Kohlhauser C., Kaehler S., Mosgoeller W. et al. Histological changes and neurotransmitters levels three month following perinatal asphyxia in the rat. *Life Sci.* 1999; 64 (23): 2109—2124.
61. Рогаткин С. О., Блинов Д. В., Володин Н. Н. и др. Перспективы применения иммуноферментного анализа нейроспецифических антигенов в перинатальной неврологии (клинико-экспериментальное исследование). *Вопр. гин., акуш. и перинатол.* 2003; 2 (4): 8—15.
62. Чехонин В. П., Лебедев С. В., Блинов Д. В. и др. Патогенетическая роль нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейроспецифических белков при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях центральной нервной системы у новорожденных. *Вопр. гин., акуш. и перинатол.* 2004; 3 (2): 50—61.
63. Блинов Д. В., Лебедев С. В., Чехонин В. П. и др. Изменения высшей нервной деятельности у крыс с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС. *Рос. психиатр. журн.* 2003; 6: 9—13.
64. Nunez J., Alt J., McCarty M. M. A novel model for perinatal brain damage. *Exp. Neurol.* 2003; 181: 258—269.
65. Wang X., Zhu C., Wang X. et al. X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) protein protects against caspase activation and tissue loss after neonatal hypoxia-ischemia. *Neurobiol. Dis.* 2004; 16 (1): 179—189.
66. Mateffyova A., Otahal J., Tsenov G. et al. Intrahippocampal injection of endothelin-1 in immature rats results in neuronal death, development of epilepsy and behavioral abnormalities later in life. *Eur. J. Neurosci.* 2006; 24 (2): 351—360.
67. Ikeda T., Mishima K., Aoo N. et al. Rehabilitative training tasks improve spatial learning impairment in the water maze following hypoxic-ischemic insult in neonatal rats. *Pediatr. Res.* 2006; 59 (1): 61—65.
68. Hill A., Volpe J. J. Pediatrics. Ischemic and haemorrhagic lesions of newborn. In: Reimondi A. J., Choux M., Rocco C. D., eds. *Cerebrovascular diseases in children.* Stuttgart; New York: Springer Verlag; 1992. 206—215.
69. Bona E., Johansson B. B., Hagberg H. Sensorimotor function and neuropathology five to six weeks after hypoxia-ischemia in seven-day-old rats. *Pediatr. Res.* 1997; 42: 678—683.
70. Ten V. S., Bradley-Moore M., Gingrich J. A. et al. Brain injury and neurofunctional deficit in neonatal mice with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Behav. Brain Res.* 2003; 145: 209—219.
71. Kiss P., Tamas A., Lubics A. et al. Development of neurological reflexes and motor coordination in rats neonatally treated with monosodium glutamate. *Neurotox. Res.* 2005; 8: 235—244.
72. McDonald J. W., Johnston M. V. Excitatory amino acid neurotoxicity in the developing brain. *NIDA Res. Monogr.* 1993; 133: 185—205.
73. Marret S., Mukendi R., Gadisseux J. F. et al. Effect of ibotenate on brain development: An excitotoxic mouse model of microgyria and posthypoxic-like lesions. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1995; 54: 358—370.
74. Hennebert O., Laudenbach V., Laquerriere A. et al. Ontogenic study of the influence of tissue plasminogen activator (t-PA) in neonatal excitotoxic brain insult and the subsequent microglia/macrophage activation. *Neuroscience* 2005; 130: 697—712.
75. Mesples B., Fontaine R. H., Lelievre V. et al. Neuronal TGF-beta1 mediates IL-9/mast cell interaction and exacerbates excitotoxicity in newborn mice. *Neurobiol. Dis.* 2005; 18: 193—205.

76. *Plaisant F., Clippe A., Vander Stricht D.* et al. Recombinant peroxiredoxin 5 protects against excitotoxic brain lesions in newborn mice. *Free Radic. Biol. Med.* 2003; 34: 862–872.
77. *Dommergues M. A., Plaisant F., Vemey C., Gressens P.* Early microglial activation following neonatal excitotoxic brain damage in mice: A potential target for neuroprotection. *Neuroscience* 2003; 121: 619–628.
78. *Ferriero D. M., Holtzman D. M., Black S. M., Sheldon R. A.* Neonatal mice lacking neuronal nitric oxide synthase are less vulnerable to hypoxic-ischemic injury. *Neurobiol. Dis.* 1996; 3: 64–71.
79. *Fullerton H. J., Ditelberg J. S., Chen S. F.* et al. Copper/zinc superoxide dismutase transgenic brain accumulates hydrogen peroxide after perinatal hypoxia ischemia. *Ann. Neurol.* 1998; 44: 357–364.
80. *Graham E. M., Sheldon R. A., Flock D. L.* et al. Neonatal mice lacking functional Fas death receptors are resistant to hypoxic-ischemic brain injury. *Neurobiol. Dis.* 2004; 17: 89–98.
81. *Ohshima T., Ward J. M., Huh C. G.* et al. Targeted disruption of the cyclin-dependent kinase 5 gene results in abnormal corticogenesis, neuronal pathology and perinatal death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 11173–11178.
82. *Varfolomeev E. E., Schuchmann M., Luria V.* et al. Targeted disruption of the mouse Caspase 8 gene ablates cell death induction by the TNF receptors, Fas/Apo1, and DR3 and is lethal prenatally. *Immunity* 1998; 9: 267–276.
83. *Sfaello I., Baud O., Arzimanoglou A., Gressens P.* Topiramate prevents excitotoxic damage in the newborn rodent brain. *Neurobiol. Dis.* 2005; 20 (3): 837–848.

Поступила 03.09.07

PROBLEMS AND PROSPECTS OF EXPERIMENTAL MODELING OF HYPOXY-ISCHEMIC LESIONS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Lebedev S. V., Karasev A. V., Rogatkin S. O., Volodin N. N., Chekhonin V. P.

Perinatal hypoxo-ischemic brain lesions are one of the main causes of mortality and dysfunction of the central nervous system in the neonatal period accounting for high disability rate among survivors. Numerous animal models were proposed to study this problem in ante-, intra-, and neonatal periods of ontogenesis. This paper is devoted to the analysis of the adequacy of these models. The processes of brain development in laboratory animals are considered along with etiopathogenetic factors that can be reproduced on the models of perinatal hypoxo-ischemic lesions in CNS. The available data on such models and their correspondence to known clinical syndromes are summarized. Current trends in the development of new models of hypoxo-ischemic brain lesions are discussed.