

---

---

ОБЗОРНЫЕ  
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

---

---

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОВРЕЖДАЮЩЕЙ  
И ПРОТЕКТИВНОЙ ГИПОКСИИ МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2022 г. Д. Г. Семенов<sup>1</sup>, \*, А. В. Беляков<sup>1</sup>, Е. А. Рыбникова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: dsem50@rambler.ru

Поступила в редакцию 02.09.2022 г.

После доработки 07.11.2022 г.

Принята к публикации 07.11.2022 г.

В настоящее время наблюдается новый всплеск интереса к проблеме гипоксии, почти утраченный в последние десятилетия. В связи с тем, что когорта компетентных специалистов в этой области существенно сократилась, необходимо осуществлять интенсивный обмен знаниями. С целью проинформировать широкий круг заинтересованных исследователей и врачей, в настоящем обзоре обобщено современное понимание гипоксии, ее патогенных и адаптогенных последствий, а также ключевых физиологических и молекулярных механизмов, которые реализуют реакцию на гипоксию на различных уровнях — от клеточного до организменного. В обзоре приведена современная классификация форм гипоксии, понимание которой необходимо для формирования научно обоснованного подхода к экспериментальному моделированию гипоксических состояний. Проведен анализ литературы, освещающий историю и современный уровень моделирования гипоксии в экспериментах на млекопитающих животных и человеке, в том числе способов создания умеренной гипоксии, применяемой для повышения резистентности нервной системы к тяжелым формам гипоксии и другим экстремальным факторам. Отдельное внимание уделяется обсуждению особенностей и ограничений различных подходов к созданию гипоксии, а также раскрытию потенциала практического применения умеренных гипоксических воздействий в лечебной и профилактической медицине.

*Ключевые слова:* гипоксия, классификация форм, экспериментальные модели гипоксии/ишемии, гипоксическая толерантность, мозг

DOI: 10.31857/S086981392212010X

Гипоксический фактор — один из ведущих в патогенезе сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний, занимающих первое место по распространенности и летальности среди других патологических состояний организма. При всем этиологическом разнообразии гипоксии и обширной классификации ее форм наиболее чувствительной мишенью ее пагубного воздействия является мозг. Соответственно, изучение механизмов и разработка новых способов повышения толерантности мозга к повреждающему действию гипоксии является одной из центральных проблем теоретической и прикладной физиологии, начиная с пионерских работ под руководством Л.А. Орбели и до наших дней. Можно выделить два основных подхода к решению этой проблемы. Первый заключается в использовании медикаментозных фармакологических средств (ноотропов, нейропротекторов, антигипоксантов, нейротрофинов и др). При этом следует признать, что молекулярные механизмы

воздействия многих существующих фармакологических препаратов недостаточно изучены, эффективность их действия не всегда высока, а побочные эффекты могут инициировать дополнительные патологические процессы. Второй подход базируется на использовании немедикаментозных средств, мобилизующих эндогенные, эволюционно приобретенные и генетически закрепленные защитные механизмы. В частности, к таким средствам относятся умеренные сублетальные гипоксические воздействия. Настоящий обзор демонстрирует эволюцию представлений о гипоксии, способах экспериментального моделирования различных ее форм, а также о механизмах как патогенных, так и адаптогенных ее последствий для организма в целом и особенно для центральной нервной системы. Авторы рассчитывают, что освещение этой неизменно актуальной темы послужит совершенствованию способов повышения резистентности мозга человека к повреждающим воздействиям.

## ПОНЯТИЕ ГИПОКСИИ

Исследования, начатые еще в XIX веке, к 60-м годам XX века сформировали представления о гипоксии, как о важнейшем проявлении патологии тканей и клеток, вызываемом комплексом физических, химических и биологических факторов. К концу века сформировались представления не о патогенных, а об адаптогенных свойствах гипоксии умеренной силы, которую можно использовать в качестве прекондиционирующего (упреждающего, защитного) воздействия для снижения повреждающего эффекта последующей, более тяжелой формы гипоксии на мозг [1]. Главным патогенетическим элементом при гипоксии любой этиологии выступает не пониженный уровень кислорода как таковой, а ограничение возможности клетки производить достаточное количество макроэргических соединений для обеспечения комплекса своих эндергонических процессов (энергодифицит). В нервных клетках млекопитающих основная энергопродукция обеспечивается митохондриями в ходе окислительного фосфорилирования при деградации углеводов в цикле Кребса. При этом конечным акцептором электронов в цепи окислительно-восстановительного катаболизма глюкозы выступает  $O_2$ . Таким образом, от организма требуется постоянная поставки субстрата (глюкозы) и конечного окислителя (кислорода) в клетки. Очевидно поэтому гипоксией часто называют состояние, связанное с дефицитом только  $O_2$ , а ишемией называют гипоксию, усугубленную дефицитом глюкозы. Явление ишемии привлекает больший интерес исследователей, чем “чистая” гипоксическая гипоксия, поскольку оно чаще наблюдается в клинических ситуациях (инфаркт миокарда, инсульт, тромбозы, отеки, опухоли, черепно-мозговые травмы и т.п.). Наиболее уязвимыми в условиях гипоксии оказываются нервные клетки центральной нервной системы, поскольку их энергопотребление исключительно высоко, а запасы дыхательных субстратов в виде гликогена (как, например, в мышцах) крайне ограничены или отсутствуют. Кроме того, при гипоксии нейроны мозга, в отличие от клеток периферических тканей, не могут долго получать энергию за счет запуска процессов гликолиза [2]. В связи с этим при обсуждении механизмов гипоксического клеточного патогенеза и путей защиты от него имеют в виду в первую очередь нейроны головного мозга.

Поскольку функцию кислородно-субстратного снабжения клеток млекопитающих выполняет система кровообращения, то любые причины, ограничивающие переход кислорода из атмосферы в легкие, из альвеол в кровь, из крови в клетки и из цитозоля в митохондрии, а также причины, ограничивающие уровень глюкозы в крови и эффективность ее транспорта к митохондриям, вызывают развитие гипоксического (ишемического) состояния. “Доза” гипоксии или ишемии, т.е. степень и длительность кислородно-субстратного дефицита, определяет развитие в орга-

низме, тканях и клетках либо компенсаторно-приспособительных реакций, либо патогенеза, ведущего к гибели.

При выборе экспериментальной модели, позволяющей изучить эти процессы, следует учитывать указанное различие между гипоксическим и ишемическим состояниями. А именно тот факт, что во втором случае ограничение кислородного снабжения усугубляется не только гипогликемией, но и нарушением таких функций кровотока, как интегративная нейро-гуморальная сигнализация, транспорт метаболитов, водно-солевой обмен и пр.

## ПАТОГЕННЫЕ И АДАПТОГЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ГИПОКСИИ

Первые изменения в организме при развитии гипоксии характеризуются включением комплекса компенсаторно-приспособительных реакций различного уровня, направленных на сохранение гомеостаза (*фаза компенсации*). В этой фазе различают реакции, направленные на приспособление к кратковременной острой гипоксии (*срочные*) и реакции, обеспечивающие устойчивое приспособление к менее выраженной, но длительно существующей или многократно повторяющейся гипоксии (*реакции долговременного приспособления*). Если эти реакции оказываются недостаточными, а гипоксические факторы продолжают действовать – в организме развиваются структурно-функциональные нарушения (*фаза декомпенсации*). Обе фазы проявляются на всех уровнях от организменного до клеточного. В основе срочных компенсаторных реакций организменного уровня на гипоксию лежит кардио-респираторный рефлекс, начинающийся с деполяризации  $O_2$  – чувствительных клубочковых клеток каротидных телец, которая запускается митохондриальным сигналингом [3, 4]. Комплексный рефлекторный ответ выражается: в увеличении альвеолярной вентиляции за счет углубления и учащения дыхания и мобилизации резервных альвеол; в учащении сердечных сокращений; в выбросе крови из резервных кровяных депо; в увеличении ударного и минутного объема сердца; в повышении скорости кровотока (прежде всего – мозгового); в уменьшении кровоснабжения мышц, кожи и других “не критических” потребителей; в ограничении активности органов и тканей, непосредственно не участвующих в обеспечении транспорта кислорода [5].

В ответ на гипоксию повышается кислородная емкость крови за счет усиленного вымывания эритроцитов из костного мозга и активации эритропоэза; повышается кислородная емкость гемоглобина и облегчается его диссоциация в периферическом русле кровотока; повышается сопряженность процессов биологического окисления и фосфорилирования; усиливается анаэробный синтез АТФ за счет активации гликолиза; в различных тканях увеличивается продукция оксида азота, что ведет к расширению прекапиллярных сосудов и снижению адгезии и агрегации тромбоцитов [6].

Важной приспособительной реакцией при гипоксии является активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (стресс-синдром), гормоны которой (в частности, глюкокортикоиды) стимулируют различные внутриклеточные сигнальные системы, приводящие к экспрессии генов и их белковых продуктов, чья активность направлена на компенсацию энергодефицита, стимуляцию нейропластичности и сопротивление нейродегенеративным процессам [7, 8].

Если организменные и тканевые компенсаторные реакции не в состоянии противостоять продолжающейся и/или углубляющейся гипоксии/ишемии, в нервных клетках развивается деэнергизация, нарушающая гомеостатический баланс важнейших электрогенных и регуляторных катионов (K, Na, Ca), что приводит к деполяризации плазмолеммы и внутренних мембран; нарушается оборот глутамата в системе нейрон–глия и механизмы, контролирующие его рецепцию нейромембра-

нами. Это приводит к гипервозбуждению глутаматных рецепторов и развитию так называемого эксайтотоксикоза нейронов, сопровождающегося их перегрузкой внеклеточным  $\text{Ca}^{2+}$ . Рост концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  усугубляется его высвобождением из эндоплазматического ретикула и митохондрий, а также дополнительным входом через неспецифические катионные каналы плазмолеммы. Активируются патогенные  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые фосфатазы и киназы, запускающие механизмы нейродегенерации. Патогенная ситуация усугубляется накоплением токсичных “неструктурированных” белков, гиперактивацией свободно-радикальных процессов, дезорганизацией митохондрий и другими молекулярными процессами, ведущим к гибели нейронов [9].

У человека острая гипоксия, вызванная, например, снижением содержания кислорода во вдыхаемом воздухе до уровня 15–10% или высотной гипобарией (преимущественно у альпинистов или пилотов), сопровождается отчетливыми нейропсихическими расстройствами. Проведено множество исследований таких расстройств, возникающих на умеренных, больших и экстремальных высотах. В условиях среднегорья обнаружено снижение точности и скорости двигательных реакций и психомоторной работоспособности, возникает изменение почерка и пропуск букв, снижаются пороги восприятия вкуса, запаха, боли. Нередко возникали эстетические иллюзии, эйфория и зрительные галлюцинации. На высотах от 6000 м происходят явные нарушения когнитивных функций. Снижаются показатели обучаемости, кратковременной памяти, речи, когнитивной гибкости, возникают признаки депрессии [10]. Между тем отмечено, что выраженность указанных расстройств зависит от личностного психотипа, рабочей мотивации, опыта и других индивидуальных психофизиологических характеристик. В условиях гипоксии эта специфика поддерживается паттерном регуляции локального мозгового кровотока, в которой важную роль играет сигналинг внутри системы нейроны–астроциты–микрососуды [11]. Психофизиологические нарушения начинают сопровождаться соматическими. В частности, компенсаторный механизм гипоксической легочной вазоконстрикции при углублении и продлении гипоксического состояния выступает причиной отека легких [12]. Гипоксическая тахикардия продолжает усиливаться, хотя амплитуда пульса снижается вплоть до нитевидного; возникает фибрилляция предсердий и желудочков. Систолическое давление после фазы компенсаторного подъема начинает падать [13].

## КЛАССИФИКАЦИЯ ГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Для выбора адекватной экспериментальной гипоксической модели на животных *in vivo* или на выделенных тканях и клетках (*ex vivo, in vitro*) необходимо учитывать реально возникающие гипоксические состояния, которые могут иметь различные причины и ход развития. В связи с этим важно охарактеризовать формы гипоксии, возникающие у людей в экстремальных ситуациях или в патологических состояниях. В отечественной медицинской литературе обычно используют классификацию, предложенную Сиротининым и Колчинской [14].

Одной из наиболее типичных форм гипоксии, по общепринятой классификации, считается гипоксия, связанная со снижением содержания  $\text{O}_2$  во вдыхаемом воздухе, относящаяся к категории “экзогенных” и называемая гипоксической гипоксией. Две ее разновидности: гипобарическая и нормобарическая гипоксия.

**Гипобарическая гипоксия.** Это состояние возникает при понижении парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе, в условиях разреженной атмосферы. Оно может возникать при подъеме в горы (горная болезнь) или при разгерметизации (не герметичности) летательных аппаратов (высотная болезнь). При быстрой декомпрессии, с которой сталкивается летный состав, у человека развивается

симптомокомплекс дизбаризма, зависящий от высоты. На высоте 3000–4000 м происходит расширение газов и относительное увеличение их давления в замкнутых полостях тела (придаточные полости носа, лобные пазухи, полости среднего уха, плевральные полости, желудочно-кишечный тракт), что ведет к раздражению соответствующих рецепторов, вызывая резкие “высотные боли”; на высоте 9000 м развивается десатурация крови и газовая эмболия, приводящая к ишемии, нарушению зрения, вегето-сосудистым и психическим расстройствам; на высоте 19000 м ( $pO_2 = 10$  мм Нг) и более возникает “кипение” в жидких средах, приводящее к тканевой и подкожной эмфиземе. Хроническая форма гипобарической гипоксии или горная болезнь развивается при относительно медленном подъеме и длительном пребывании на высотах свыше 5000 м. При поэтапном подъеме к этому уровню и длительных экспозициях на промежуточных высотах организм человека успевает активировать компенсаторные и адаптивные механизмы, закрепление которых приводит к акклиматизации.

**Нормобарическая гипоксия.** Эта форма развивается в тех случаях, когда понижена лишь концентрация кислорода во вдыхаемом воздухе. Обычно это происходит при неисправностях искусственных систем кислородного обеспечения, применяемых в летательных аппаратах, подводных лодках, горнодобывающих шахтах, тесных помещениях, клинических стационарах и т.д. В случае снижения концентрации кислорода во вдыхаемом воздухе ниже 8% (при норме 21–22%) в организме возникает состояние, сходное с горной болезнью на высоте 7500–8000 м.

Несколько форм гипоксии, объединяемых понятием “эндогенные”, связаны с различными затруднениями доставки  $O_2$  тканям и его утилизации в механизмах биологического дыхания.

**Респираторная гипоксия.** Форма гипоксии, связанной с нарушениями усвоения кислорода системой альвеолы–кровь. Она возникает в связи с затруднениями доставки и/или диффузии кислорода из альвеол в капилляры (болезни легких, трахеи, бронхов; нарушение функции дыхательного центра; пневмоторакс; воспаление, эмфизема, асбестоз легких; механические препятствия для поступления воздуха). Респираторная гипоксия обычно сочетается с гиперкапнией. Гипоксические состояния указанных выше форм условно разделяют по степени их тяжести. В основе этой градации лежит величина напряжения кислорода в артериальной крови, которая в норме составляет 90–100 мм Нг. *Легкая гипоксия* характеризуется снижением  $pO_2$  до 60–50 мм Нг, *средняя* – до 50–40 мм Нг, *тяжелая* до 40–20 мм Нг и *крайне тяжелая* – ниже 20 мм Нг.

**Циркуляторная (ишемическая) гипоксия.** Гипоксическое состояние, связанное с нарушениями системы кровообращения, приводящими к недостаточному снабжению органов и тканей кислородом и глюкозой. Важнейший показатель ее развития – уменьшение минутного объема крови. Причинами циркуляторной гипоксии всего организма могут быть расстройство сердечной деятельности (инфаркт, кардиосклероз, перегрузка сердца, нарушения нейрогуморальной регуляции функции сердца) или гиповолемия из-за массивной кровопотери. Ишемия мозга возникает в результате склероза, тромбоза или разрыва мозговых сосудов. Признаком ишемической гипоксии является сниженное напряжение кислорода в венозной крови при нормальном его содержании в артериальной (высокая артериовенозная разница по кислороду).

**Гемическая гипоксия.** Форма гипоксии, связанной с патологией крови, приводящей к снижению ее кислородной емкости. Причинами выступают: анемия (снижение содержания гемоглобина в крови) или нарушение способности гемоглобина связывать, транспортировать и отдавать тканям кислород (образование карбоксигемоглобина, метгемоглобина, генетические аномалии гемоглобина). Признак ге-

мической гипоксии – снижение содержания кислорода и в артериальной, и в венозной крови.

**Тканевая (цитотоксическая) гипоксия.** Форма гипоксии, связанная с угнетением энергопродукции митохондрий. К этому типу относят состояния, при которых происходит: (а) вызванное токсинами снижение активности дыхательных ферментов или их синтеза; (б) гибель или структурные аномалии митохондрий; (в) разобщение процессов биологического окисления и фосфорилирования, при котором потребление кислорода тканями не снижается или может возрасти, но продукция макроэргов недостаточна для покрытия их энергетических потребностей. Признаком тканевой гипоксии является повышение содержания кислорода в венозной крови (низкая артерио-венозная разница по кислороду).

**Субстратная (гипогликемическая) гипоксия.** Форма, вызываемая недостатком глюкозы как субстрата клеточного дыхания. Это состояние возникает при первичном дефиците глюкозы, приводящем к нарушению всех звеньев биологического окисления. Субстратная гипоксия обычно возникает при расстройствах углеводного обмена (сахарный диабет и др.), а также при тяжелом голодании.

**Перегрузочная гипоксия.** Особая форма гипоксии, вызванная чрезмерной потребностью в энергии. Такое состояние возникает при напряженной деятельности органа или ткани, когда функциональные резервы систем транспорта и утилизации кислорода при отсутствии в них патологических изменений оказываются недостаточными для обеспечения резко увеличенной потребности в кислороде (чрезмерная мышечная работа, перегрузка сердца). Признаком перегрузочной гипоксии является феномен “кислородного долга”, т.е. развитие венозной гипоксемии и гиперкапнии при увеличении скорости доставки и потребления кислорода.

Гипоксические состояния человека иногда классифицируют по скорости нарастания и протекания. *Молниеносная гипоксия* может возникать при разгерметизации высотных летательных аппаратов и развивается в течение секунд. *Острая гипоксия*, возникающая при высотной болезни, асфиксии или обильной кровопотери, развивается в течение минут. *Подострая гипоксия* развивается в течение часов, дней или недель. Этот вид наблюдается при непродолжительном пребывании в условиях высокогорья, при острой пневмонии или острой сердечной, или дыхательной недостаточности. *Хроническая гипоксия* может тянуться месяцами и годами. Это состояние характерно для длительного пребывания в высокогорье или при некоторых хронических заболеваниях.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ГИПОКСИИ

В экспериментальной практике используется множество моделей гипоксии, применяемых на животных (чаще на грызунах) с целью имитации и исследования патологических или адаптивных механизмов, инициируемых у человека гипоксиями различных форм и доз. Относительно безопасные формы и дозы гипоксии применяют на приматах и испытуемых людях. Обычно это дозированные воздействия гипоксической или перегрузочной гипоксии. Для исследования на животных используют две основные группы экспериментальных гипоксических моделей. В первой – гипоксическое воздействие предъявляется интактному или наркотизированному животному (гипоксия *in vivo*). Эта группа моделей позволяет имитировать патофизиологию человека, производить относительно длительное наблюдение за подопытным животным, оценивать системные и отдаленные эффекты гипоксии, наконец, это необходимый исследовательский этап перед началом клинических испытаний. Во второй группе гипоксические условия создаются *in vitro* выделенному и инкубируемому участку ткани или клеточной культуре. На таких моделях можно исследовать клетки человеческого происхождения, учитывать функциональную

специфику клеток разного типа, выявлять гипоксическую реактивность отдельных внутриклеточных сигнальных систем и применять геномную редакцию, что в целом формирует большой объем данных. Наконец, они легче поддаются стандартизации, автоматизации и позволяют преодолеть этические ограничения. Между тем для каждой группы моделей установлен список ограничений не менее обширный, чем преимуществ [15].

Следует отметить, что каждой модели соответствует своя техническая или хирургическая процедура и произвольно выбираемый экспериментальный протокол. В нем предусматривается, прежде всего, доза гипоксии. Часто гипоксии умеренной дозы применяются и исследуются как адаптогенные стимулы, повышающие резистентность тканей и клеток к повреждающим воздействиям, в том числе гипоксическим. Если такая гипоксия используется как “упреждающая” процедура, за которой следует тяжелая гипоксия или иное воздействие, известное как патогенное, говорят о *гипоксическом прекондиционировании*. Если же она применяется как “лечебное” средство после патологического воздействия, ее называют *посткондиционирующей* [16]. Некоторые исследователи, применяющие комбинацию этих форм, вводят термин *перикондиционирование* [17]. Модели тяжелой гипоксии могут воспроизводить или временное, или необратимое гипоксическое состояние. Первую парадигму называют *гипоксия/реоксигенация* или *ишемия/реперфузия*. Вторая схема относится к терминальным (летальным) воздействиям и нацелена на исследование механизмов гибели клеток.

Модификацией гипоксических моделей можно считать применение серии кратковременных гипоксий, чередующихся с периодами реоксигенации или гипероксигенации. В зависимости от частоты чередования и количества процедур в серии такую схему называют либо *интервальной (repetitive hypoxia)*, либо *прерывистой (intermittent hypoxia)*. Впрочем, эти термины не всеми четко разделяются [18].

#### *Модели гипоксии in vivo*

**Модель глобальной ишемии мозга.** Модели этого типа призваны имитировать ишемию всего мозга, которая может возникать при ситуациях, ограничивающих (останавливающих) кровотоки в магистральных артериях. Глобальная ишемия мозга экспериментального животного достигается остановкой сердца или блокадой мозгового кровотока. На крысах применяют классическую модель полной ишемии мозга: “4-сосудистая окклюзия”, при которой сначала коагулируют обе позвоночные артерии, а через день временно перекрывают кровотоки в сонных артериях [19]. На монгольской песчанке можно применять “2-сосудистую окклюзию сонных артерий”, поскольку у этого вида Велизиев круг не замкнут и данной меры достаточно, чтобы лишить кровоснабжения весь головной мозг [20]. При использовании мышей или крыс 2-сосудистую окклюзию следует сопровождать снижением общего артериального давления [21]. На моделях ишемии–реперфузии помимо исследования патологических процессов, развивающихся после восстановления кровоснабжения мозга, можно исследовать механизмы развития клеточной толерантности к гипоксии.

**Модели глобальной гипоксической гипоксии.** В зависимости от контекста исследования, эти модели могут применяться в остром или хроническом эксперименте. В остром эксперименте с наркотизацией, миорелаксацией и искусственной вентиляцией легких целесообразно использовать дыхательные газовые гипоксические смеси или останавливать искусственную вентиляцию (аноксия). В частности, интересные результаты дала модель “живого препарата” коры мозга наркотизированной кошки или кролика, разработанная в 70-е годы Самойловым и Семеновым и никем не повторенная [22, 23]. Специальной нейрохирургической операцией ча-

стично выделялся участок сенсо-моторной коры мозга с сохранным кровоснабжением через пиальную оболочку, который поворачивался под углом  $90^\circ$  так, чтобы поверхность поперечного разреза становилась доступной для контактной микроскопии и применения микроэлектродов для регистрации биоэлектрической активности или напряжения кислорода. При этом введение витальных красителей в омывающий раствор позволяло наблюдать отдельные нейроны и измерять в них динамику окислительно-восстановительных процессов, а также проявления нарушений кальциевого обмена в ходе аноксической и постаноксической экспозиции животного различной длительности. Доза гипоксического воздействия при этом определяется исключительно длительностью экспозиции. Очевидным ограничением таких моделей является артефактное влияние наркоза и миорелаксации, невозможность исследования отсроченных процессов реоксигенации и другие факторы острого эксперимента.

Менее сложными и более воспроизводимыми представляются популярные модели на интактных животных, помещенных в специальные камеры, в хроническом эксперименте. При этом применима как нормобарическая, так и гипобарическая гипоксии. Для первой доза определяется процентной долей кислорода, а для второй – степенью разрежения воздуха. Выбирается также определенная экспозиция, их число и временной интервал между ними. Это существенно повышает вариативность параметров, определяющих эффект гипоксии. Впрочем, этот эффект может быть оценен либо *in vivo* поведенческими методами при реоксигенации, либо гистохимическими исследованиями образцов *post mortem*.

*Нормобарическое воздействие* обычно применяют к взрослым животным (мыши или крысы), помещенным в камеру, которая продувается газовой смесью, обедненной кислородом (иногда до 5–8%) в течение 1–5 ч. Материал для анализа забирают на различных сроках гипоксии или реоксигенации. Исследования постгипоксической динамики нескольких нелинейно меняющихся характеристик (например, экспрессии генов), требуют забора материала с коротким временным шагом (5–6 точек в интервале от 1 до 24 ч реоксигенации) [24]. Помимо изучения патогенного эффекта гипоксии, этот подход часто применяют, в том числе на людях, при исследовании нейропротективного эффекта повторяющихся умеренных гипоксий или гипоксической тренировки. В этом случае газовая смесь в пределах 8–15%  $O_2$  подается ежедневно с определенной длительностью сеанса. Может применяться смесь одного состава или в чередовании с иной гипоксической, нормоксической или гипероксической смесью [25].

При создании *гипобарической гипоксии* принимается во внимание тот факт, что большинство людей на Земле живет на высоте до 3000 м над уровнем моря, но 15 млн человек живут в полосе от 3000 до 4800 м. На высоте свыше 5500 м человек не может жить длительное время. В соответствии с этим в экспериментальных барокамерах для людей традиционно применяют две степени разрежения воздуха: либо на рубеже “среднегорья” и “высокогорья” т.е. 3000–4000 м (в качестве тренировочной, адаптирующей процедуры), либо свыше 7000–8000 м (кратковременно, как тест на эффективность антигипоксических мер). Следует отметить, что эти рубежи приняты для “среднестатистического” нетренированного по специальным методикам человека. Они различаются у отдельных популяций людей, имеют индивидуальные вариации, а также отличаются у людей, предварительно акклиматизированных к высоте или подвергнутых гипоксическим тренировкам. Кроме того, они специфичны и у разных видов млекопитающих, используемых в эксперименте.

Применительно к крысам в ряде исследований экспозиция на уровне тяжелой гипобарической гипоксии (ТГГ) – 7600 м производилась от 3 ч [26, 27]. После “спуска” обычно исследуют характеристики, выявляющие повреждающий эффект ТГГ, от геномного уровня до когнитивных функций. Более жесткое воздействие



ТГГ на крыс – 10000–11000 м без предварительной протекции и при достаточной длительности является заведомо летальным и служит в качестве контроля для применения прекодиционирующих нейропротективных процедур. В частности, перед ТГГ крысам создают серию умеренных, кратковременных ежедневных гипобарических воздействий (4000–5000 м), формирующих гипоксическую толерантность и ослабляющих или предотвращающих развитие патологии, вызываемой ТГГ. Промежуточный уровень гипобарической гипоксии (6000–6500 м) иногда применяют в форме многократных более или менее длительных сессий (прерывистая гипобарическая гипоксия). Могут применяться резкие, “импульсные” воздействия. Например, ежедневно по 1 сеансу длительностью 1 ч, в котором гипобария (6500 м) создается с экспозицией 1 мин через каждые 5 мин. В другом варианте при исследовании нарушений в уровнях моноаминов в различных отделах мозга крысы ежедневную гипобарию (5500 м) длительностью 8 ч создавали в течение недели [28].

Трансляционный потенциал моделей ТГГ невелик, и таких публикаций в открытой печати мало, поскольку проблемы, связанные с экстремальным альпинизмом, не имеют широкого распространения, а ситуации катастрофической разгерметизации относятся, обычно, к сфере военной авиационной медицины. Вместе с тем модели умеренных гипобарических воздействий широко используются на животных для исследования механизмов гипоксической/ишемической толерантности мозга [29].

**Модели фокальной ишемии.** В клинике наиболее часто сталкиваются с состояниями неполной (фокальной) ишемии мозга или инсультом. В англоязычной литературе такую ишемизацию ограниченного мозгового участка называют “*stroke*”. Одной из часто используемых моделей с 80–90-х годов выступает модель окклюзии средней мозговой артерии (*MCAo* – *middle cerebral artery occlusion*) [30]. Модель была предложена в 1986 г. [31] и затем несколько модернизирована [32]. В этой модели под наркозом обнажается область правой или левой каротидной артерии, наружная каротидная артерия перерезается и используется как вход в общую и внутреннюю каротидную артерию для введения упругой силиконизированной нити. Нить проводится через систему каротидных артерий так, чтобы попасть в среднюю мозговую артерию и перекрыть в ней кровоток. На крысах такую окклюзию создают обычно на 60–120 мин. Нить можно извлечь и восстановить перфузию [33]. При достаточной длительности окклюзии в реперфузируемой коре головного мозга через некоторое время развивается апоптотическая нейродегенерация. К недостаткам модели следует отнести частые случаи субарахноидальной геморрагии и негативные последствия ишемизации лицевых и челюстных областей головы, вызванных перекрытием наружной каротидной артерии. Вариантом *MCAo* выступает ее эмболизация. В этой технике вместо нити в среднюю мозговую артерию вводят раствор, содержащий силиконовые макросферы. Это позволяет ишемизировать менее обширные участки мозга и не повредить гипоталамус, что предотвращает ишемическую гипертермию [30]. Однако при этом способе невозможна реперфузия. Вариантом эмболической модели выступает остроумная фототромбозная модель фокальной ишемии, предложенная и разработанная в 70–80-е годы, которая использует явление локального фотоокисления специальных фоточувствительных красителей (например, Бенгальского розового) [34]. Краситель вводится внутривенно и распространяется по системе пиальных сосудов мозга. При фокусированном освещении коры мозга по стереотаксическим координатам через черепную кость можно вызвать локальное повреждение сосудистого эндотелия синглетным кислородом, активацию тромбоцитов и полную ишемизацию в зоне облучения. Эта модель минимально инвазивна, не требует наркоза и создает очень малую, “прицельно” выбранную область ишемизации. Впрочем, она имитирует лишь не-

обратимую ишемию и создает слишком малую область “теневого ишемизации” (*zona penumbra*). А между тем, именно эта зона, возникающая в естественных ситуациях инсульта в связи с активацией коллатерального кровоснабжения вокруг очага полной ишемии, характеризуется развитием определенного паттерна функциональных нарушений и представляет особый интерес для клиницистов. Для исследования механизмов гипоксической толерантности мозга используют комбинированные модели. Одна из них сочетает кратковременную прекондиционирующую фокальную ишемию и последующую (через 24 ч) тяжелую глобальную ишемию [35].

Несмотря на разнообразие моделей гипоксии/ишемии *in vivo*, применяемых на животных, до сих пор ни одна из них не может быть признана идеально имитирующей реальные клинические ситуации в мозге человека [36]. В связи с этим постоянно появляются новые модели и совершенствуются старые [37, 38].

**Модели гипоксии, применяемые на людях.** В силу понятных причин исследование гипоксических воздействий на человеке имеет ряд ограничений. Во-первых, исключается возможность анализа выделенных образцов тканей, и в распоряжении исследователя остается более или менее расширенный клинический анализ крови (определение уровней эритропоэтина, эритроцитов, ретикулоцитов, гемоглобина, гематокрита, растворимого трансферрин-рецептора и др. [39]), а также оценка общепатологических или психологических характеристик. Во-вторых, применяются относительно безопасные модели обратимого и четко дозируемого воздействия, которое может быть прервано в любой момент. Обычно такие модели сводятся к трем группам: нормобарическая, гипобарическая или перегрузочная гипоксия или их комбинации. В-третьих, выбор модели определяется практическими (профессиональными) задачами, подразумевающими сохранение работоспособности человека в гипоксической среде или при чрезмерных энергозатратах. Такие исследования часто проводят в спортивной или военной медицине. Следует отметить, что в силу известных этических и экономических причин, применение экспериментальной гипоксии к приматам как конечному объекту доклинических исследований, имеет почти те же ограничения, что и эксперименты на людях. Помимо изучения соматических эффектов гипоксии, особое внимание уделяется ее воздействию на когнитивные функции этих животных [40, 41].

Часть “человеческих” моделей направлена на имитацию постепенного развития гипоксии и длительного пребывания в гипоксических условиях (альпинизм, высокогорные тренировки). Для этих задач обычно проводят исследования и тренировки в условиях “среднегорья” (2500–4000 м) в течение 3–5 нед. [42]. Другие модели применяются для изучения острых форм гипоксии, развивающихся при резком и относительно кратковременном снижении уровня кислорода и/или кровоснабжения (разгерметизация летательных аппаратов, нарушения систем обеспечения в замкнутых пространствах, гравитационные перегрузки). Как и на животных, в этих моделях, во-первых, широко применяется принцип повторяющихся гипоксических воздействий с различной длительностью, числом и интервальностью экспозиций в серии и повторяемостью самих серий; во-вторых, с их помощью исследуют как патогенные, так и адаптогенные последствия.

Особая сфера применения адаптогенных гипоксических процедур на человеке отводится практической медицине (как профилактической, так и лечебной). Одной из распространенных схем в лечении ряда респираторных, кардиологических, аллергических и др. расстройств является модель многократно повторяющихся сеансов умеренной нормобарической гипокситерапии (10–30 сеансов в течение нескольких недель) [25]. Сеансы гипобаротерапии часто применяются для лечения бронхиальной астмы, гипопластической и железодефицитной анемии, хронического лейкоза, сердечно-сосудистых нарушений, гипертонической болезни, постинфарктного кардиосклероза, эндокринных заболеваний (тиреотоксикоз, сахар-

ный диабет), хронических воспалительных гинекологических заболеваний, неврастении и т.д. [43]. Недавно было показано, что интервальная гипобарическая гипоксия, сочетанная с физическими нагрузками, существенно облегчает реабилитацию пациентов, восстанавливающихся после COVID-19 [44]. В профилактическом плане (гипобаропрофилактика) гипобарию применяют к людям, имеющим факторы риска в быту или в профессиональной деятельности (избыточный вес, стрессорная обстановка, физические перегрузки, воздействие электромагнитных полей, необходимость повышения физических и психических характеристик работоспособности в экстремальных ситуациях).

**Модель дистантной ишемии.** Эта модель становится весьма популярной в последние годы в трансляционных исследованиях как нейропротективное воздействие в форме дистантного ишемического прекодиционирования (remote ischemic preconditioning – RIPC). Суть ее заключается в создании серии кратковременных ишемизаций/реперфузий периферических участков тела (обычно – конечностей). Такая процедура инициирует протективный феномен в жизненно важных органах, чьи функции нарушены стойкой ишемией/реперфузией. Доклинические исследования с применением RIPC указывают на протекцию от фокальной и глобальной ишемии/реперфузии мозга. Показано также, что кондиционирование дистантной ишемией задней конечности оказывает выраженное стресс-протективное, антидепрессант-подобное и анксиолитическое действие [45]. В поисках механизмов нейропротективного феномена RIPC исследуется участие HIF-1 $\alpha$ , окислительного стресса, глюкокортикоидных рецепторов, тромбоцитарного ответа, рецепторов аденозина A1, АМФ-активируемой протеинкиназы и др. Выявляются ранние и поздние фазы нейропротектирующего дистантного ишемического прекодиционирования и различия в их механизмах [45, 46].

**Модели гипоксии *in vivo*, принятые в фармакологии.** После оценки метаболизма и фармакокинетики лекарственных средств, проводимой обычно на каскаде моделей *in vitro*, переходят к оценке эффективности отобранного препарата-кандидата на моделях *in vivo*, сначала на грызунах, затем на более “высоких” видах (приматах). При последовательном использовании группы таких моделей определяется уровень безопасности препарата и степень побочного действия [47].

Исследуемый антигипоксикант обычно вводят подопытному животному подкожно или внутривенно курсом в течение 5 дней до предъявления гипоксического теста. Контрольная группа в том же режиме получает плацебо. Критерием успешного подбора фармпрепарата является достоверно повышенное качество восстановления функций при реоксигенации после гипоксического теста. В случаях применения летальных гипоксических воздействий (без реоксигенации) критерием эффективности препарата является увеличение времени жизни животных в условиях гипоксии по сравнению с выживаемостью тех, кто получал плацебо. При фармакологическом скрининге часто используют *острую нормобарическую гиперкапническую гипоксию*. Эта простая модель предусматривает помещение животного в герметичный сосуд малого объема, где, по мере потребления O<sub>2</sub> животным, его концентрация снижается, а концентрация CO<sub>2</sub> возрастает. Через некоторое время животное погибает [48]. *Острая гемическая гипоксия* создается с использованием подкожного введения нитрита натрия (NaNO<sub>2</sub>) в дозе 150–250 мг/кг. Эта соль окисляет двухвалентное железо гемоглобина до трехвалентного. Образовавшийся метгемоглобин утрачивает способность обратимо связывать O<sub>2</sub>, и развивается гемическая гипоксия [49]. На мышах и крысах применяется также *острая ТГГ* – однократный “подъем” в барокамере на высоту 11 000–12 000 м с высокой скоростью (около 30 м/с). При этом общее время достижения летального гипобарического плато составляет около 6 мин. Как и в случаях описанных моделей, критерием эф-

фektivности фармпрепарата является увеличение длительности жизни животных по сравнению с контролем [50]. При фармакологическом скрининге часто используются различные варианты описанной выше модели *фокальной ишемии мозга* с помощью необратимой МСАо [51, 52]. В ряде случаев на вторые сутки ишемии головного мозга оценивается психо-физиологическое состояние крыс в поведенческих тестах “Открытое поле” и “Приподнятый крестообразный лабиринт”. Затем после эвтаназии проводят гистохимическое и гистологическое исследование мозга. По классической методике для оценки уровня ишемизации применяют 0.5%-ный раствор Эванса голубого. Окрашенную ткань помещают в диметилсульфоксид для экстракции и спектрофотометрии красителя. Об обширности ишемического повреждения судят по интенсивности окраски экстракта в спектральной области 630 нм. Существует ряд методик с применением красителей, выявляющих на фиксированных гистологических препаратах мозга некротические или апоптотные нейроны. В гомогенатах мозга определяют биохимические показатели, характеризующие энергетический обмен (содержание лактата и пирувата, АТФ, АДФ и АМФ), состояние перекисного окисления липидов (содержание малонового диальдегида) и состояние антиоксидантной системы (активность супероксиддисмутазы и содержание восстановленного глутатиона).

#### *Модели гипоксии ex vivo*

Чтобы лучше понять молекулярные механизмы повреждения мозга при гипоксии/ишемии широко применяются модели *ex vivo*. В них транспортную функцию крови заменяют инкубационные среды, проточные или сменяемые. Были разработаны различные модели выделенных тканей мозга.

Фрагменты мозговой ткани молодых животных (для крыс возраст не более 1 недели) могут расти в инкубаторах и быть пригодными для эксперимента до месяца. Такая органотипическая культура ткани может создаваться из определенного участка мозга (например, гиппокампа, мозжечка, коры больших полушарий). Было доказано, что эта система относительно устойчиво воспроизводит постнатальное развитие мозга с установлением межнейронных связей и проявлением специфических физиологических и биохимических свойств [53]. Донорами для таких объектов могут быть мыши, крысы, морские свинки, кролики и эмбрион человека. Чаще выращивают культуру гиппокампа, т.к. он обладает четкими структурными и функциональными особенностями своих участков, среди которых зона CA1 с нейронами, высокочувствительными к гипоксии. Для имитации ишемии применяют замену оксигенированной питательной инкубационной среды раствором, лишенным кислорода и глюкозы (oxygen glucose deprivation – OGD) [54, 55]. Один из недостатков данной модели – это необходимость работать с тканью, находящейся в состоянии раннего онтогенеза и, следовательно, обладающей спецификой обменных и регуляторных процессов, свойственной весьма молодому организму. Другим возможным ограничением работы с культурами являются трудности с контролем напряжения кислорода в околкеклеточном пространстве в “нормоксических” и, тем более, в “гипоксических” условиях. Несмотря на стандартные рекомендации для состава инкубата и окружающей атмосферы (18.6% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>), имеются существенные трудности в определении реального его состава вблизи отдельных клеток [56, 57]. Усматриваются как минимум две причины. Во-первых, специфика работы с культурами требует не проточной инкубации, а периодической сменяемости сред. При этом, по мере потребления клетками O<sub>2</sub>, его содержание к моменту очередной смены может снижаться до “гипоксического” (по некоторым данным уже в течение часа). Во-вторых, клетки культуры в силу слипания и адгезии к подложке изначально в разной степени обеспечиваются кислородом из инкубата.

Борьба с этими недостатками модели требует применения сложных инкубационных систем и постоянного контроля рО<sub>2</sub> в различных микроучастках культуры [58].

При необходимости исследования “взрослой”, высокодифференцированной ткани применяют модель переживающих срезов, свежеприготовленных из мозга декапитированного животного (*acute slices*) [59]. На этом объекте можно создавать как OGD срезов гиппокампа [60, 61], так и нормогликемическую гипоксию различной глубины, вплоть до аноксии срезов коры [62, 63]. Эта модель имеет ряд преимуществ перед клеточными культурами уже потому, что предполагает проточную инкубационную среду. Кроме того, она позволяет наблюдать взаиморасположение и взаимодействия между функционально различными клетками выбранного объекта с использованием контактной или конфокальной микроскопии, биоиндикаторных красителей и микроэлектродной техники. Однако и такие модели имеют свои ограничения. “Взрослые” срезы трудно поддерживать в активном функциональном состоянии дольше суток, поэтому на них исследуют наиболее быстро развивающиеся последствия гипоксического воздействия. Кроме того, даже в тонких срезах (менее 300 мкм) кислород диффундирует из омывающего раствора с градиентом, падающим от поверхности к подложке. Для конфокальной микроскопии и спектрофлуориметрии ткани в таких условиях мало пригодны инвертированные микроскопы, поскольку в их рабочее “поле зрения” попадают прежде всего плохо омываемые нижние области среза. Применение же микроскопической техники с верхним расположением объектива создает конструктивные трудности для микроэлектродной техники.

Для обеих групп моделей *in vitro*, применяемых в гипоксических экспериментах, по-прежнему критическим ограничением является сложность в обеспечении “нормоксического” и “гипоксического” насыщения инкубационной среды кислородом, которое бы имитировало уровни реального кислородного обеспечения *in vivo*. Особенно остро эта проблема встает при необходимости быстрой смены одной среды на другую в моделях периодической гипоксии *in vitro*, имитирующей абструктивное сонное апноэ [64]. Для преодоления этих ограничений используют биореакторы, предварительно подготавливающие сменные среды для культуры и позволяющие производить их экспозицию в рамках десятков секунд [65]. Другую проблему технологии культур в открытых ячейках, а именно замедленную диффузию из окружающей газовой среды, отчасти удалось решить применением кислородопроницаемых подложек на дне ячеек. При этом колебания кислорода в газовой фазе становятся напрямую доступны клеткам и приклеточной жидкой среде во всем объеме препарата [66].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изложенные в обзоре сведения позволяют заключить, что к настоящему времени разработан широкий арсенал различных подходов и способов моделирования гипоксических состояний в экспериментах на млекопитающих животных и человеке. Проведение исследований с использованием этих моделей позволит в значительной мере раскрыть высокий потенциал умеренных гипоксических воздействий для медицины, спорта, экстремального туризма, а также подготовки работников, чья трудовая деятельность связана с риском экспозиции повреждающим факторам, в том числе в авиакосмической отрасли.

Судя по накопленным данным, предоставляемым различными моделями экспериментальной гипоксии, применение гипоксического кондиционирования, стимулирующего эволюционно древние механизмы гипоксической/ишемической толерантности мозга млекопитающих, представляется важным немедикаментозным компонентом превентивной и терапевтической стратегии для борьбы с нейродеге-

неративными, неврологическими и психическими заболеваниями человека, когнитивным дефицитом и преждевременным старением.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ (проект № 22-25-00781).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

Написание текста и оформление рукописи – Д.Г.С. Подбор литературы – Д.Г.С., А.В.Б., Е.А.Р. Идея обзора, редактирование текста, введение, заключение – Е.А.Р.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, Hata R, Ueda H, Niinobe M, Handa N, Fukunaga R, Kimura K, Mikoshiba K (1990) “Ischemic tolerance” phenomenon found in the brain. *Brain Res* 528: 21–24.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90189-i](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90189-i)
2. Barros L, San Martín A, Ruminot I, Sandoval P, Baeza-Lehnert F, Arce-Molina R, Rauseo D, Contreras-Baeza Y, Galaz A, Valdivia S (2020) Fluid Brain Glycolysis: Limits, Speed, Location, Moonlighting, and the Fates of Glycogen and Lactate. *Neurochem Res* 45: 1328–1334.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-020-03005-2>
3. López-Barneo J, González-Rodríguez P, Gao L, Fernández-Agüera M, Pardo R, Ortega-Sáenz P (2016) Oxygen sensing by the carotid body: mechanisms and role in adaptation to hypoxia. *Am J Physiol Cell Physiol* 310: C629–C642.  
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00265.2015>
4. Lindsey B, Nuding S, Segers L, Morris K (2018) Carotid Bodies and the Integrated Cardiorespiratory Response to Hypoxia. *Physiology (Bethesda Md)* 33: 281–297.  
<https://doi.org/10.1152/physiol.00014.2018>
5. Dempsey J, Morgan B (2015) Humans In Hypoxia: A Conspiracy Of Maladaptation?! *Physiology (Bethesda Md)* 30: 304–316.  
<https://doi.org/10.1152/physiol.00007.2015>
6. Евсеева М, Евсеев А, Правдивцев В, Шабанов П (2008) Механизмы развития острой гипоксии и пути ее фармакологической коррекции. *Обзоры по клин фармакол и лекарств терапии* 6: 3–25. [Evseeva M, Evseev A, Pravdivtsev W, Shabanov P (2008) Mechanisms of development of acute hypoxia and its pharmacologic correction. *Rev Clin Pharmac and Drug Therap* 6: 3–25. (In Russ)].
7. Меерсон Ф (1993) Адаптация к стрессу: механизмы и защитные перекрестные эффекты. *Нур Мед J* 4: 23–30. [Meerson F (1993) Adaptation to stress: mechanisms and protective cross-effects. *Hyp Med J* 4: 23–30. (In Russ)].
8. Rybnikova E, Nalivaeva N (2021) Glucocorticoid-Dependent Mechanisms of Brain Tolerance to Hypoxia. *Int J Mol Sci* 22: 7982.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22157982>
9. Khoshnam S, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam H (2017) Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci* 38: 1167–1186.  
<https://doi.org/10.1007/s10072-017-2938-1>
10. Virués-Ortega J, Buela-Casal G, Garrido E, Alcázar B (2004) Neuropsychological functioning associated with high-altitude exposure. *Neuropsychol Rev* 14: 197–224.  
<https://doi.org/10.1007/s11065-004-8159-4>
11. Steinback C, Poulin M (2016) Influence of Hypoxia on Cerebral Blood Flow Regulation in Humans. *Adv Exp Med Biol* 903: 131–144.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7678-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7678-9_9)
12. Dunham-Snary K, Wu D, Sykes E, Thakrar A, Parlow L, Mewburn J, Parlow J, Archer S (2017) Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: From Molecular Mechanisms to Medicine. *Chest* 151: 181–192.  
<https://doi.org/10.1016/j.chest.2016.09.001>

13. *Bilo G, Caravita S, Torlasco C, Parat G* (2019) Blood pressure at high altitude: physiology and clinical implications. *Kardiologia polska* 77: 596–603.  
<https://doi.org/10.33963/KP.14832>
14. *Сиротинин Н* (1981) Эволюция резистентности и реактивности организма. Москва. Медицина. [*Sirotnin N* (1981) Evolution of resistance and reactivity of organism. Moscow. Meditsina. (In Russ)].
15. *Chazelas P, Steichen C, Favreau F, Trouillas P, Hannaert P, Thuillier R, Giraud S, Hauet T, Guillard J* (2021) Oxidative Stress Evaluation in Ischemia Reperfusion Models: Characteristics, Limits and Perspectives. *Int J Mol Sci* 22: 1–21.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22052366>
16. *Burda J, Burda R* (2021) Ischemic tolerance – blessing or curse. *Physiol Res* 70: 661–670.  
<https://doi.org/10.33549/physiolres.934644>
17. *Zhang Y, Cao Y, Liu C* (2020) Autophagy and Ischemic Stroke. *Adv Exp Med Biol* 1207: 111–134.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-15-4272-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4272-5_7)
18. *Viscor G, Torrell, J R, Corral L, Ricart A, Javierre C, Pages T, Ventura J L* (2018) Physiological and Biological Responses to Short-Term Intermittent Hypobaric Hypoxia Exposure: From Sports and Mountain Medicine to New Biomedical Applications. *Front Physiol* 9: 814.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00814>
19. *Pulsinelli W, Brierley J* (1979) A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke* 10: 267–272.  
<https://doi.org/10.1161/01.str.10.3.267>
20. *Ito U, Hakamata Y, Yamaguchi T, Ohno K* (2013) Cerebral ischemia model using mongolian gerbils-comparison between unilateral and bilateral carotid occlusion models. *Acta Neurochir Suppl* 118: 17–21.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1434-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1434-6_3)
21. *León-Moreno L, Castañeda-Arellano R, Rivas-Carrillo J, Dueñas-Jiménez S* (2020) Challenges and Improvements of Developing an Ischemia Mouse Model Through Bilateral Common Carotid Artery Occlusion. *J Stroke Cerebrovasc Diseases* 29: 104773.  
<https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104773>
22. *Семенов Д, Лазаревич Е, Самойлов М* (1988) Изменения обмена кальция в структурах коры головного мозга при аноксии. *Бюл эксп биол мед* 105: 261–264. [*Semenov D, Lazarewicz J, Samoilov M* (1988) The changes in calcium metabolism in brain structures during anoxia. *Bull Exp Biol Med* 105: 261–264. (In Russ)].
23. *Самойлов М* (1999) Мозг и адаптация. Молекулярно-клеточные механизмы. СПб. ИФРАН. [*Samoilov M* (1999) Brain and adaptation. Molecular-cellular Mechanisms. Spb. IFRAN. (In Russ)].
24. *Xu H, Lu A, Sharp F* (2011) Regional genome transcriptional response of adult mouse brain to hypoxia. *BMC Genomics* 12: 499–515.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-499>
25. *Цыганова ТН* (2019) Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка – обоснование создания нового поколения гипоксикатора гипо-окси-1 (обзорная статья). *Рос журн реабил мед* 1: 46–66. [*Tsyganova TN* (2019) Normobaric interval hypoxic training – rationale for creating a new generation of the hypoxicator hypo-oxy-1 (review article). *Russ J Rehab Med* 1: 46–66. (In Russ)].
26. *Sharma N, Sethy N, Bhargava K* (2013) Comparative proteome analysis reveals differential regulation of glycolytic and antioxidant enzymes in cortex and hippocampus exposed to short-term hypobaric hypoxia. *J Proteomics* 79: 277–298.  
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.12.020>
27. *Kauser H, Sahu S, Kumar S, Panjwani U* (2013) Guanfacine is an effective countermeasure for hypobaric hypoxia – induced cognitive decline. *Neuroscience* 254:110–119.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.09.023>
28. *Goswami AR, Dutta G, Ghosh T* (2016) Naproxen, a Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug, Can Affect Daily Hypobaric Hypoxia-Induced Alterations of Monoamine Levels in Different Areas of the Brain in Male Rats. *High Altitude Med Biol* 17: 133–140.  
<https://doi.org/10.1089/ham.2015.0052>
29. *Rybnikova E, Vorobyev M, Pivina S, Samoilov M* (2012) Postconditioning by mild hypoxic exposures reduces rat brain injury caused by severe hypoxia. *Neurosci Lett* 513: 100–105.  
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.02.019>
30. *Carmichael T* (2005) Rodent models of focal stroke: size, mechanism and purpose. *NeuroRx* 2: 396–409.  
<https://doi.org/10.1602/neurorx.2.3.396>

31. *Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, Ooneda G* (1986) Experimental studies of ischemic brain edema. A new experimental model of cerebral embolism in which recirculation can introduced into the ischemic area. *Jpn J Stroke* 8: 108–118.
32. *Belayev L, Alonso O, Busto R, Zhao W, Ginsberg M* (1996) Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture. Neurological and pathological evaluation of an improved model. *Stroke* 27: 1616–1622.  
<https://doi.org/10.1161/01.str.27.9.1616>
33. *Takagi K, Zhao W, Busto R, Ginsberg M* (1995) Local hemodynamic changes during transient middle cerebral artery occlusion and recirculation in the rat: a [<sup>14</sup>C]iodoantipyrine autoradiographic study. *Brain Res* 691: 160–168.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00657-c](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00657-c)
34. *Labat-gest V, Tomasi S* (2013) Photothrombotic ischemia: a minimally invasive and reproducible photochemical cortical lesion model for mouse stroke studies. *J Visual Exp: JoVE* 76: 1–6. 50370.  
<https://doi.org/10.3791/50370>
35. *Glazier S, O'Rourke D, Graham D, Welsh F* (1994) Induction of ischemic tolerance following brief focal ischemia in rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 14: 545–554.  
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.1994.68>
36. *Hossmann K-A* (2008) Cerebral ischemia: models, methods and outcomes. *Neuropharmacology* 55: 257–270.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.12.004>
37. *Sommer C* (2017) Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathol* 133: 245–261.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-017-1667-0>
38. *Johnson S, Dwivedi A, Mirza M, McCarthy R, Gilvarry M* (2022) Review of the Advancements in the in-vitro Modelling of Acute Ischemic Stroke and Its Treatment. *Front Med Technol* 4: 879074.  
<https://doi.org/10.3389/fmedt.2022.879074>
39. *Stray-Gundersen J, Chapman R, Levine B* (2001) “Living high, training low” altitude training improves sea level performance in male and female elite runners. *J Appl Physiol* 91: 1113–1120.  
<https://doi.org/10.1152/jappl.2001.91.3.1113>
40. *Беляков А, Семенов Д* (2018) Стимуляция когнитивных способностей пожилых макак умеренной гипобарической гипоксией. *Успехи геронтол* 31: 966–972. [*Belyakov A, Semenov D* (2018) Stimulation of cognitive abilities in aged macaques by moderate hypobaric hypoxia. *Adv Geront* 31: 966–972. (In Russ)].  
<https://www.researchgate.net/publication/331354909>
41. *Беляков А, Семенов Д* (2018) Опыт исследования и коррекции когнитивных функций макак. *Журн высш нервн деят им ИП Павлова* 68: 163–175. [*Belyakov A, Semenov D* (2018) The experience of investigation and correction of cognitive function of macaca mulatta. *Zhurn Viss Nerv Deyat im IP Pavlova* 68: 163–175. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.7868/S004446771802003X>
42. *Clarke C* (2006) Acute mountain sickness: medical problems associated with acute and subacute exposure to hypobaric hypoxia. *Postgrad Med J* 82: 748–753.  
<https://doi.org/10.1136/pgmj.2006.047662>
43. *Wright A* (2006) Medicine at high altitude. *Clin Med* 6: 604–608.  
<https://doi.org/10.7861/clinmedicine.6-6-604>
44. *Trapé Á, Camacho-Cardenosa M, Camacho-Cardenosa A, Merellano-Navarro E, Rodrigues J, da Silva Lizzi E, Sorgi C, Papoti M, Brazo-Sayavera J* (2021) Effects of moderate-intensity intermittent hypoxic training on health outcomes of patients recovered from COVID-19: the AEROBICOVID study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 22: 534.  
<https://doi.org/10.1186/s13063-021-05414-2>
45. *Baranova K* (2017) Remote ischemic conditioning of the brain: phenomena and mechanism. *Neurochem J* 11: 189–193.  
<https://doi.org/10.1134/S1819712417030023>
46. *Sharma D, Maslov L, Singh N, Jaggi A* (2020) Remote ischemic preconditioning-induced neuroprotection in cerebral ischemia-reperfusion injury: Preclinical evidence and mechanisms. *Eur J Pharmacol* 883: 173380.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173380>
47. *Landucci E, Pellegrini-Giampietro D E, Facchinetti F* (2022). Experimental Models for Testing the Efficacy of Pharmacological Treatments for Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Biomedicines* 10: 937.  
<https://doi.org/10.3390/biomedicines10050937>
48. *Левченкова О, Новиков В, Марышева В* (2015) Влияние нового производного тиазолоин-дола на устойчивость организма к гипоксии в ранний и поздний периоды прекондици-



- онирования. Обзоры клин фармакол лекарств терапии 13: 52–55. [Levchenkova O, Novikov V, Marysheva V (2015) Influence of the new tiazoloindole derivative on organism resistance to hypoxia in the early and late periods of preconditioning. Rev Clin Pharmacol Drug Therap 13: 52–55. (In Russ)].
49. Hzhelots'kyi M, Panina L, Terlets'ka O, Koval'chuk S (2007) Functional and metabolic basis of sodium nitrite modulatory influence in the brain in hemic hypoxia. Fiziol Zh 53: 70–77. PMID: 17725046
  50. Li M, Wu L-Y, Zhao T, Wu K, Xiong L, Zhu L, Fan M (2011) The protective role of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) against acute hypobaric hypoxia. Cell Stress Chaper 16: 529–537. <https://doi.org/10.1007/s12192-011-0264-8>
  51. Stutzmann J, Mary V, Wahl F, Grosjean-Piot O, Uzan A, Pratt J (2002) Neuroprotective profile of enoxaparin, a low molecular weight heparin, in in vivo models of cerebral ischemia or traumatic brain injury in rats: a review. CNS Drug Rev 8: 1–30. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2002.tb00213.x>
  52. Hoffman G, Merchenhaler I, Zup S (2006) Neuroprotection by ovarian hormones in animal models of neurological disease. Endocrine 29: 217–231. <https://doi.org/10.1385/endo:29:2:217>
  53. Gahwiler B, Capogna M, Debanne D, McKinney R, Thompson S (1997) Organotypic slice cultures: a technique has come of age. Trends Neurosci 20: 471–477. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(97\)01122-3](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(97)01122-3)
  54. Vornov J, Tasker R, Coyle J (1994) Delayed protection by MK-801 and tetrodotoxin in a rat organotypic hippocampal culture model of ischemia. Stroke 25: 457–464. <https://doi.org/10.1161/01.str.25.2.457>
  55. Cimarosti H, Zamin L, Frozza R, Nassif M, Horn A, Tavares A, Netto A, Salbeogo C (2005) Estradiol protects against oxygen and glucose deprivation in rat hippocampal organotypic cultures and activates Akt and inactivates GSK-3beta. Neurochem Res 30: 191–199. <https://doi.org/10.1007/s11064-004-2441-y>
  56. Place TL, Domann FE, Case AJ (2017) Limitations of oxygen delivery to cells in culture: an underappreciated problem in basic and translational research. Free Radic Biol Med 113: 311–322. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.003>
  57. Bordt EA (2018) The importance of controlling in vitro oxygen tension to accurately model in vivo neurophysiology. Neurotoxicology 66: 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.10.008>
  58. Pavlacky J, Polak J (2020) Technical Feasibility and Physiological Relevance of Hypoxic Cell Culture Models. Front Endocrinol 11: 1–15. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00057>
  59. Whittingham T, Lust D, Passonneau J (1984) An in vitro model of ischemia: metabolic and electrical alterations in the hippocampal slice. J Neurosci 4: 793–802. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.04-03-00793.1984>
  60. Tasca CI, Dal-Cim T, Cimarosti H (2015) In vitro oxygen-glucose deprivation to study ischemic cell death. Methods Mol Biol (Clifton, NJ) 1254: 197–210. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2152-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2152-2_15)
  61. Pérez-Rodríguez D, Anunciabay-Soto B, Llorente I, Pérez-García C, Fernández-López A (2015) Hippocampus and cerebral cortex present a different autophagic response after oxygen and glucose deprivation in an ex vivo rat brain slice model. Neuropathol Appl Neurobiol 41: e68–e79. <https://doi.org/10.1111/nan.12152>
  62. Semenov D, Samoilo M, Łazarewicz J (2008) Preconditioning reduces hypoxia-evoked alterations in glutamatergic Ca<sup>2+</sup> signaling in rat cortex. Acta Neurobiol Exp (Wars) 68: 169–179.
  63. Revah O, Lasser-Katz E, Fleidervish I, Gutnick M (2016) The earliest neuronal responses to hypoxia in the neocortical circuit are glutamate-dependent. Neurobiol Disease 95: 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.07.019>
  64. Hunyor I, Cook K (2018) Models of intermittent hypoxia and obstructive sleep apnea: molecular pathways and their contribution to cancer. Am J Physiol 315: R669–R687. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00036.2018>
  65. Tsapikouni T, Garreta E, Melo E, Navajas D, Farré R (2012) A bioreactor for subjecting cultured cells to fast-rate intermittent hypoxia. Respirat Physiol and Neurobiol 182: 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2012.01.001>
  66. Polak J, Studer-Rabeller K, McHugh H, Hussain MA, Shimoda LA (2015) System for exposing cultured cells to intermittent hypoxia utilizing gas permeable cultureware. Gen Physiol Biophys 34: 235–247. [https://doi.org/10.4149/gpb\\_2014043](https://doi.org/10.4149/gpb_2014043)

---

**Experimental Modeling of Damaging and Protective Hypoxia  
of the Mammalian Brain****D. G. Semenov<sup>a, \*</sup>, A. V. Belyakov<sup>a</sup>, and E. A. Rybnikova<sup>a</sup>***<sup>a</sup>Pavlov Institute of Physiology of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia**\*e-mail: dsem50@rambler.ru*

Currently, there is a new surge of interest in the problem of hypoxia, almost lost in recent decades. Due to the fact that the circle of competent specialists in this field has significantly narrowed, it is necessary to carry out an intensive exchange of knowledge. In order to inform a wide range of interested researchers and doctors, this review summarizes the current understanding of hypoxia, its pathogenic and adaptogenic consequences, as well as key physiological and molecular mechanisms that implement the response to hypoxia at various levels – from cellular to organismic. The review presents a modern classification of forms of hypoxia, the understanding of which is necessary for the formation of a scientifically based approach to experimental modeling of hypoxic states. An analysis of the literature covering the history and current level of hypoxia modeling in mammals and human experiments, including methods for creating moderate hypoxia used to increase the resistance of the nervous system to severe forms of hypoxia and other extreme factors, is carried out. Special attention is paid to the discussion of the features and limitations of various approaches to the creation of hypoxia, as well as the disclosure of the potential for the practical application of moderate hypoxic effects in medicine.

*Keywords:* hypoxia, classification of forms, experimental models of hypoxia/ischemia, hypoxic tolerance, brain