

# МЕХАНИЗМЫ ВТОРИЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕЙРОНОВ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ (ЧАСТЬ 2)

В. В. Мороз<sup>1</sup>, Н. Б. Кармен<sup>2</sup>, Е. И. Маевский<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН, Москва

<sup>2</sup> НИИ теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

## Mechanisms of Secondary Neuronal Damage in Severe Brain Injury (Part 2)

V. V. Moroz<sup>1</sup>, N. B. Karmen<sup>2</sup>, E. I. Mayevsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

<sup>2</sup> Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region

**Обзор посвящен механизмам вторичного гипоксически-ишемического повреждения головного мозга при тяжелой черепно-мозговой травме. Приводятся новые данные по механизмам глутамат-кальциевого повреждения нейронов, и оксидантного стресса. Ключевые слова:** центральная нервная система, черепно-мозговая травма, гипоксия, ишемия, глутамат-кальциевый каскад, оксидантный стресс.

The review is devoted to the mechanisms of secondary hypoxic-ischemic brain injury in severe brain trauma. It gives new data on the mechanisms of glutamate- and calcium-induced neuronal damage and oxidative stress. **Key words:** central nervous system, brain injury, hypoxia, ischemia, glutamate-calcium cascade, oxidative stress.

Наряду с  $\text{Ca}^{2+}$  в механизмах вторичного повреждения клеток ЦНС принимают участие и другие двухвалентные ионы. Селективный анализ гибели нейронов в эксперименте выявил факт цинк-опосредованной эксайтотоксичности [1]. Внутриклеточный цинк ( $\text{Zn}^{2+}$ ) помимо того, что является компонентом металлизависимых ферментов и транскрипционных факторов, также является нейротрансмиттером и нейромодулятором [2, 3]. К примеру, у мышей линии ZnN3KO, дефицитных по пресинаптическому везикулярному  $\text{Zn}^{2+}$ , через 24 часа после ЧМТ увеличивается число некротических и апоптотических клеток, особенно в областях мозга, связанных с когнитивными функциями [4]. При глобальной ишемии головного мозга в нейронах гиппокампа крыс резко уменьшается внутриаксональное содержание  $\text{Zn}^{2+}$  с параллельным нарастанием их концентрации в телах нейронов [1, 5]. Поступление  $\text{Zn}^{2+}$  в клетку происходит через кальциевые каналы: потенциал-зависимые (путем обмена на внутриклеточный  $\text{Na}^+$ ), агонист-зависимые, сопряженные с NMDA-рецепторами, кальций-проницаемые AMPA-рецепторы [6]. Свободный  $\text{Zn}^{2+}$  даже в низких концентрациях блокирует перенос восстановительных эквивалентов по дыхательной цепи на уровне III комплекса и практически прекращает окисление всех субстратов цикла Кребса и  $\beta$ -окисление жирных кислот. Результатом такого накопления является тяжелая дезэнергизация клеток [7]. Транслокация  $\text{Zn}^{2+}$  и связанная с этим дегенерация нейроцитов существенно замедляется в условиях краниоцебральной гипотермии [8]. В зависимости от времени экспозиции внутриклеточное накопление  $\text{Zn}^{2+}$  может провоцировать как некроз, так и апоптоз клеток [9].

Избыток внутриклеточного  $\text{Zn}^{2+}$  снижает содержание внутриклеточного АТФ и может существенно нарушать процессы гликолиза [10]. Перемещение  $\text{Zn}^{2+}$  из терминалей в постсинаптические нейроны, селективно восприимчивые к

ишемии, возникает диффузно в различных отделах мозга и предвосхищает дегенеративные изменения нейроцитов [11]. Кроме того,  $\text{Zn}^{2+}$  ингибирует активность специфического переносчика  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  [12]. Внеклеточный  $\text{Zn}^{2+}$  вызывает активацию микроглии через последовательную активацию НАДФН-оксидазы, поли (АДФ-рибозы) полимеразы-1 (PARP-1) и ядерного фактора транскрипции NF-каппаВ [13]. Так, экспрессия ядерного фактора транскрипции NF-каппаВ достигает максимального значения уже в 1-е сутки ишемии головного мозга и сохраняется на этом уровне в течение месяца [14].

**Этап экспрессии** — это третий этап глутамат-кальциевого каскада, итогом которого является гибель клетки. Кальций, в избытке накопившийся во время этапа амплификации, взаимодействует с внутриклеточным рецептором кальмодулином и активирует кальмодулинзависимые внутриклеточные ферменты (фосфолипазы, протеинкиназы, эндонуклеазы, протеиназы, каспазы), обладающие повреждающим действием на мембранные клеток и макромолекулы, что в итоге и приводит клетку к гибели [15, 16].

Уровни цитозольной фосфолипазы  $A_2$  (cPLA2alpha) у мышей, позитивных по cPLA2alpha, тотчас после окклюзии средней мозговой артерии были увеличены в 2 раза по сравнению с cPLA2alpha-негативными мышами, при этом индукция нейрональной циклооксигеназы-2, концентрации простагландин  $E_2$  и уровни активных форм кислорода (АФК) были также существенно выше. Это уже через 6 часов ишемии способствовало значительно выраженному отеку головного мозга и более массивному повреждению нейронов у позитивных по cPLA2alpha мышей [17]. Активация секреторных фосфолипаз провоцирует воспалительную реакцию, окислительный стресс и повреждение клеточных мембран [18]. Тромбин (серазная протеаза) при кровоизлиянии и повреждении гематоэнцефалического барьера патологически активирует микроглию уже через 3 часа [19]. Повышенная активность кальций-кальмодулинзависимой киназы при гипоксии и ишемии гиппокампальных нейронов отмечена уже через 15 минут глобальной ишемии [20].

Распад фосфолипидов в наружной клеточной мемbrane и в мембранах внутриклеточных органелл особенно трагичен для

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Кармен Наталья Борисовна  
E-mail: n.karmen@yandex.ru

клетки. Уже через несколько минут ишемии отмечается высвобождение из мембран пальмитиновой и докозогексаеновой кислот, что является признаком распада мембранных фосфолипидов (фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина). Через 30 минут ишемии разрушается около 16% фосфатидилэтаноламина и высвобождается более трети эстерифицированной арахидоновой кислоты [21]. Метаболизм последней сопряжен с образованием простагландинов, тромбоксанов, гидрокс- и гидроперекисей жирных кислот, лейкотриенов и активных форм кислорода (АФК) [22]. В результате резко активируются свободно-радикальное и перекисное окисление липидов (ПОЛ). В условиях быстрого истощения антиоксидантных систем это сопровождается развитием окислительного стресса.

Перекисное окисление липидов является одним из типов нормальных метаболических процессов, необходимых для существования организмов, и участником регуляторных систем, ответственных за поддержание гомеостаза, адаптацию к неблагоприятным воздействиям, регуляцию функционального состояния клетки [23]. Уровень активности ПОЛ зависит от типа ткани и степени активности метаболизма в каждой из них. Наиболее интенсивное и продолжительное усиление активности его наблюдается при гипоксии ЦНС. Это обусловлено особенностями кровоснабжения, высокой интенсивностью обменных процессов в ткани головного мозга, отсутствием в ней запасов макроэргических соединений, большим содержанием полиненасыщенных жирных кислот в тканях мозга (до 70% от веса), более низкой по сравнению с другими тканями, активностью ферментативных антиоксидантных систем (каталазы, глутатионпероксидазы). При этом высокие концентрации аскорбата в ЦНС (в 100 раз выше, чем в периферической крови) в условиях нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера и повышенного гемолиза с накоплением высоких концентраций  $\text{Fe}^{2+}$  при ЧМТ, могут способствовать реализации прооксидантных свойств аскорбата и участия его в этом качестве в неферментативных процессах ПОЛ [24].

В норме АФК (супероксидный анион-радикал —  $\text{O}_2^-$ , пероксид водорода —  $\text{H}_2\text{O}_2$ , гидроксильный радикал —  $\cdot\text{OH}$ , синглетный кислород —  ${}^1\text{O}_2$ , пероксинитрит —  $\text{ONOO}^-$ ) играют важную роль во многих биологических процессах. К ним также относятся активные формы галогенов ( $\text{HOCl}$ ,  $\text{OCl}^-$ ,  $\text{NOBr}$ ,  $\text{HOI}$ ) и липидные радикалы — алкильные, алкоксильные, диксильные и гидропероксиды ( $\text{LOOH}$ ,  $\text{L}^\bullet$ ,  $\text{LO}^\bullet$ ,  $\text{LO}_2^\bullet$ ,  $\text{LOON}$ ).

АФК могут выступать как вторичные мессенджеры во внутриклеточных сигнальных путях [25]. На текущий день описано более 20-и так называемых «редокс-чувствительных» факторов транскрипции, реагирующих на изменение соотношения прооксидантов и антиоксидантов, приводящего к развитию окислительного или восстановительного стресса [23, 26]. Все эти регуляторные факторы служат ключевыми звенями клеточной пролиферации и дифференцировки, индукции апоптоза и развития лекарственной устойчивости. Хотя NF-каппаB и AP-1 представляют собой редокс-чувствительные факторы транскрипции, главными их активаторами являются внешние стимулы: гормоны, цитокины, факторы роста, физические воздействия. Основным назначением этих транскрипционных факторов является переключение клеток с одной программы развития на другую в целях сохранения функции органа и организма в целом, что необходимо как в адаптивных целях, так и в патологических ситуациях [27].

Еще одной мишенью АФК может являться  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза [28]. В нормальных условиях нейрональная  $\text{Na}/\text{K}$ -АТФаза потребляет от 15 до 40% энергии клетки, направляя ее на поддержание ионных градиентов. Избыточная активация глиматных рецепторов и повышение уровня АФК приводит к необратимому ингибиции этого фермента [29].

Одним из основных источников супероксидного радикала являются фагоциты. Генерирование АФК фагоцитами, с одной стороны, необходимо для реализации защитных реакций организма, а с другой — играет большую роль в повреждении тканей. Нормальная фагоцитарная функция лейкоцитов осуществляется только с участием АФК. В лейкоцитах существует специальная метаболическая система (НАДФН-оксидазная), которая це-

ленаправленно продуцирует свободные радикалы. В ответ на воздействие бактерий (или некоторых химических веществ) происходит резкое возрастание скорости образования супероксидного анион-радикала и одновременно с резким увеличением потребности в кислороде, что, в свою очередь, приводит к увеличению генерации кислорода. Этот процесс происходит очень быстро, в связи с чем и получил название «респираторного взрыва» [23, 30]. В эксперименте показано, что в условиях ишемии головного мозга именно активированная НАДФН-оксидаза способствует разрушению клеток гематоэнцефалического барьера [31].

Генерация супероксидного анион-радикала при активации НАДФН-оксидазной системы фагоцитов играет важную роль в реализации микробицидного, цитотоксического и иммунорегуляторного эффектов последних. Будучи липофильным, супероксидный анион-радикал окисляет липопротеины сыворотки и фосфолипиды мембран, что приводит к разрушению эритроцитов, выходу лизосомальных ферментов, образованию цитотоксинов [32, 33].

Молекулярные механизмы цитотоксичности супероксидного анион-радикала неясны. По-видимому, сам по себе супероксидный анион-радикал не обладает микробицидной активностью, но в условиях воспалительного ответа организма является пусковым фактором реакций, приводящих к образованию других АФК — перекиси водорода, синглетного кислорода, гидроксильного радикала, пероксинитрита и пр. Saran M. [34] считает, что генерируемый активированными НАД(Ф)Н-оксидазными комплексами супероксидный анион-радикал служит прежде всего мембранным модулятором, изменяющим физико-химические свойства липидного бислоя и тем самым «обеспечивающим» всем другим биологически активным соединениям доступ к гидрофобной (внутренней) части мембраны, а также повышающим вязкость мембранных фосфолипидов.

Одним из важнейших эффектов НАДФН-оксидазы является способность осуществлять транспорт электронов в фаголизосому, в результате чего происходит захват  $\text{H}^+$  и защелачивание среды с последующей активацией нейтральных протеаз, при низких значениях рН в лизосомах, находящихся в неактивном состоянии. Активация протеаз и является ключевым моментом микробицидного действия, а сама оксидаза в этом случае служит своеобразным электронным насосом, запускающим данный процесс посредством изменения рН от 5,0 в лизосомах до 7,8 в фаголизосомах [35].

Другой путь генерации супероксидного анион-радикала, в настоящее время признающийся главным, — это митохондриальная дисфункция, особенно выраженная в астроцитах [36]. В норме митохондрии потребляют около 99% кислорода для окисления органических веществ. В условиях патологии, до 30% потребляемого кислорода может использоваться ими на генерирование супероксидного анион-радикала. Помимо этого, источником последнего могут являться ферментативные реакции (с участием ксантиоксидазы, цитохрома Р450), окисление моноаминов, синтез простагландинов и лейкотриенов [37]. В связи с тем, что большинство этих реакций являются кальцийзависимыми, они резко активируются на фоне острой гипоксии и ишемии [23].

В физиологических условиях супероксидный анион-радикал индуцирует выход железа из ферритина и железосерных кластеров и восстанавливает трехвалентное железо ( $\text{Fe}^{3+}$ ) до двухвалентного ( $\text{Fe}^{2+}$ ), участвуя в реакциях разложения гидроперекисей, катализируемых металлами переменной валентности. В первой реакции из связанного с белками  $\text{Fe}^{3+}$  выделяются ионы свободного  $\text{Fe}^{2+}$ , которые весьма цитотоксичны: участвуя в реакции Фентона и при взаимодействии липогидропероксидами, они образуют гидроксил-радикал. Образующийся при этом пероксинитрит является исключительно токсичным веществом, участвующим во многих патологических процессах. Надо отметить, что в присутствии компонентов системы Фентона могут образовываться не только гидроксильные радикалы, но и другие реакционноспособные соединения — феррил, перферрил-ионы,  $\text{CO}^\bullet$ , которые активно включаются в процессы окисления белков [38].

Накапливаясь в избыточных количествах в реакциях Фентона, гидроксильные радикалы разрушают все клеточные компо-

ненты, инактивируют ферменты, инициируют цепные реакции ПОЛ в мембранах клеток, что извращает структурно-функциональные свойства мембран, способствуют генным мутациям в результате повреждения нуклеиновых кислот [39]. Мембранные белки в условиях нарастающего свободнорадикального повреждения разрушаются не только от прямой химической модификации, но и от изменения «липидного окружения» вследствие интенсификации ПОЛ [40]. Выход на наружную поверхность мембраны фосфатидилсерина и фосфотидилэтаноламина, наряду с активацией ПОЛ, способен индуцировать апоптоз путем запуска сигнальных систем и повышения проницаемости мембран, сопровождающейся нарастанием концентраций цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  и запуском экспрессии генов, участвующих в апоптозе [41].

В нормальных условиях содержание АФК контролируется ферментами антиоксидантной системы (супероксиддисмутазой, каталазой, глутатионпероксидазой, глутатионредуктазой), процессами восстановления НАДФ и субстратами низкомолекулярной антиоксидантной системы (мочевина, аскорбат, токоферол и др.). При истощении антиоксидантных систем повреждающее действие свободных радикалов более выражено. Не исключен и обратный процесс, своеобразный порочный круг — усиление активности нейтрофилов при активации ПОЛ. Продукты ПОЛ стимулируют образование хемоатрактантов лейкоцитов, что приводит к усилению их миграции и последующей активации с прогрессированием системной воспалительной реакции [30, 33].

Реакции окислительного стресса тесно связаны с процессами энергетического метаболизма и глутаматной эксайтотоксичности и «замыкают» эти порочные круги [42]. АФК и продукты ПОЛ ингибируют активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азы, усугубляют нарушения энергозависимого ионного транспорта, ингибируют глутаминсингтазу в астроглии, тем самым нарушая обратный захват и метаболизм глутамата, что способствует нарастанию его концентрации в синаптической щели [43]. Свободные радикалы изменяют структуру и нарушают функции рецепторных белков, вызывая их торможение или, наоборот, избыточную активацию. Открытие потенциал-зависимых и агонист-зависимых ионных каналов, связанных с рецепторами возбуждающих аминокислот, усугубляет все реакции глутамат-кальциевого каскада и индуцирует кальций-зависимый кальпанин и NO-синтазы.

Все повреждающие факторы при гипоксии (снижение  $\text{pO}_2$  в клетках, метаболический ацидоз, арахидоновый каскад, гиперкальциемия, активация протеолиза, активация лейкоцитов и т. д.) так или иначе вовлечены в процесс образования и/или увеличения уровня АФК и NO, повреждающих, в первую очередь, мембранные и сигнальные системы клеток. Фактически свободно-радикальные процессы являются вторичными факторами повреждения тканей (23).

В последние годы установлена важная роль в механизмах вторичного повреждения головного мозга такого свободного радикала, как оксида азота (NO) относится к семейству сигнальных молекул со свойствами нейротрансмиттера [43, 44]. В отличие от других нейротрансмиттеров он не резервируется в синаптических везикулах нервных окончаний и высвобождается в синаптическую щель путем свободной диффузии. Источником NO (синтезируемого из L-аргинина) в ЦНС являются NO-синтазы эндотелиоцитов (эндотелиальная синтаза — eNOS), нейроглии и астроцитов (нейрональная синтаза — nNOS) [45]. В физиологических концентрациях NO выполняет чрезвычайно разнообразные функции в ЦНС: регулирует не только системное артериальное давление, но и

## Литература

1. Tonder N., Johansen F. F., Frederickson C. J. et al. Possible role of zinc in the selective degeneration of dentate hilar neurons after cerebral ischemia in the adult rat. *Neurosci. Lett.* 1990; 109 (3): 247–252.
2. Bitanahirwe B. K., Cunningham M. G. Zinc: the brain's dark horse. *Synapse* 2009; 63 (11): 1029–1049.
3. Yuan H., Vance K. M., Junge C. E. et al. The serine protease plasmin cleaves the amino-terminal domain of the NR2A subunit to relieve zinc inhibition of the N-methyl-D-aspartate receptors. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (19): 12862–12873.
4. Doering P., Stoltzenberg M., Penkowa M. et al. Chemical blocking of zinc ions in CNS increases neuronal damage following traumatic brain injury (TBI) in mice. *PLoS One* 2010; 5 (4): e10131.
5. Choi D. W., Koh J. Y. Zinc and brain injury. *Annu. Rev. Neurosci.* 1998; 21: 347–375.
6. Stork C. J., Li Y. V. Rising zinc: a significant cause of ischemic neuronal death in the CA1 region of rat hippocampus. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2009; 29 (8): 1399–1408.
7. Чистяков В. А. Неспецифические механизмы защиты от деструктивного действия активных форм кислорода. *Успехи современной биологии* 2008; 128 (3): 300–306.

региональный тонус сосудов, контролирует активность нейроподиаторов, участвует в процессах долгосрочной потенциации, синаптической передачи, синаптической пластичности, нейроэндокринной секреции, функционировании памяти, регулировании функционального состояния глутаматных MNDA-рецепторов, внутриклеточного содержания  $\text{Ca}^{2+}$ , уровня pH на фоне церебральной ишемии [44, 46].

В небольших концентрациях NO обладает протективным действием при токсическом действии глутамата за счет активации синтеза циклического гуанозинмонофосфата (cGMP) [47], инактивации SH-группы NMDA-рецепторов и уменьшения концентрации внутриклеточного кальция [48]. В ряде работ показано, что NO проявляет и противоапоптотические свойства, в частности, предотвращает выход цитохрома C, уменьшает активацию каспаз, инактивируя активный центр этих ферментов [49]. В условиях ишемического повреждения NO может улучшать кровоснабжение мозга [50].

В патологических условиях накопление избыточной концентрации NO обеспечивается функционированием индуцибелльной NOS (iNOS), синтез которой в иммунокомpetентных клетках стимулируется интерлейкинами 1 и 2, интерфероном, фактором некроза опухоли (ФНО) [51]. В эксперименте показано, что в остром посттравматическом периоде ЧМТ ингибирование eNOS на фоне высокой активности iNOS ухудшает кровоснабжение мозга, способствует прогрессированию отека головного мозга [52]. При исследовании мозга погибших от ЧМТ установлено, что уровень экспрессии iNOS резко нарастает уже через 4–8 часов после ушиба головного мозга, максимальная активность ее регистрируется через 24–48 часов и сохраняется повышенной еще 10 суток [53]. Тканевые изоформы фермента кальций-кальмодулин-зависимы и накопление избытка кальция всегда сопровождается повышением уровня NO [52, 54]. В частности, высокие концентрации NO резко индуцируют апоптоз [49, 52] и способствуют повреждению мозга за счет увеличения частоты эмболизации сосудов микротиркуляции в результате выраженного вазоспазма [55].

Токсическое действие избытка NO связано с нарушением митохондриального окислительного фосфорилирования, образованием пероксинитрита, инактивацией СОД и гиперактивацией ПОЛ, ковалентной модификацией белков при взаимодействии с их SH-группами, повреждением ДНК, а также усилением недостаточности трофического обеспечения головного мозга [56].

Токсическое или защитное действие NO определяется его концентрацией, локализацией, источником синтеза и окружающей средой [57]. Кстати сказать, что такие различные эффекты присущи многим модуляторам центральной нервной системы, свободным радикалам и антиоксидантам [58, 59], даже степень активации NMDA-рецепторов может определять как нейротоксические эффекты ВАК, так и их протективное действие [60].

Таким образом, реакции глутамат-кальциевого каскада быстро разворачиваются в ответ на снижение мозгового кровотока и нарастание гипоксии и ишемии (даже фокальной). В результате формируется (или «расползается») зона некроза. Максимум активности процессов глутамат-кальциевого каскада приходится на первые минуты и часы гипоксически-ишемического повреждения. Повреждающие процессы третьего этапа — экспрессии — сохраняют свою значимость гораздо длительно — до 3–7–8 суток (и более), индуцируют генерализацию изменений нейроиммunoэндокринной системы.

8. Shin B. S., Won S. J., Yoo B. H. et al. Prevention of hypoglycemia-induced neuronal death by hypothermia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2010; 30 (2): 390–402.
9. Aguilar-Alonso P., Martinez-Fong D., Pazos-Salazar N. G. et al. The increase in zinc levels and upregulation of zinc transporters are mediated by nitric oxide in the cerebral cortex after transient ischemia in the rat. *Brain Res.* 2008; 1200: 89–98.
10. Sheline C. T., Cai A. L., Zhu J., Shi C. Serum or target deprivation-induced neuronal death causes oxidative neuronal accumulation of Zn<sup>2+</sup> and loss of NAD<sup>+</sup>. *Eur. J. Neurosci.* 2010; 32 (6): 894–904.
11. Bishop G. M., Dringen R., Robinson S. R. Zinc stimulates the production of toxic reactive oxygen species (ROS) and inhibits glutathione reductase in astrocytes. *Free Radic. Biol. Med.* 2007; 42 (8): 1222–1230.
12. Hershkinkel M., Kandler K., Knoch M. E. et al. Intracellular zinc inhibits KCC2 transporter activity. *Nat. Neurosci.* 2009; 12 (6): 725–727.
13. Kauppinen T. M., Higashi Y., Suh S. W. et al. Zinc triggers microglial activation. *J. Neurosci.* 2008; 28 (22): 5827–5835.
14. Kellermann K., Gordan M. L., Nollert G. et al. Long-term assessment of NFκB expression in the brain and neurologic outcome following deep hypothermic circulatory arrest in rats. *Perfusion.* 2009; 24 (6): 429–436.
15. Inayat-Hussain S. H., Chan K. M., Rajab N. F. et al. Goniothalamin-induced oxidative stress, DNA damage and apoptosis via caspase-2 independent and Bcl-2 independent pathways in Jurkat T-cells. *Toxicol. Lett.* 2010; 193 (1): 108–114.
16. Pallast S., Arai K., Pekcec A. Increased nuclear apoptosis-inducing factor after transient focal ischemia: a 12/15-lipoxygenase-dependent organelle damage pathway. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2010; 30 (6): 1157–1167.
17. Kishimoto K., Li R. C., Zhang J. et al. Cytosolic phospholipase A2 alpha amplifies early cyclooxygenase-2 expression, oxidative stress and MAP kinase phosphorylation after cerebral ischemia in mice. *J. Neuroinflammation* 2010; 7: 42.
18. Titsworth W. L., Liu N. K., Xu X. M. Role of secretory phospholipase a(2) in CNS inflammation: implications in traumatic spinal cord injury. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 2008; 7 (3): 254–269.
19. Shirakawa H., Sakimoto S., Nakao K. et al. Transient receptor potential canonical 3 (TRPC3) mediates thrombin-induced astrocyte activation and upregulates its own expression in cortical astrocytes. *J. Neurosci.* 2010; 30 (39): 13116–13129.
20. Chen S. D., Lin T. K., Lin J. W. et al. Activation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha signaling pathway protects against neuronal injury and promotes mitochondrial biogenesis in the hippocampal CA1 subfield after transient global ischemia. *J. Neurosci. Res.* 2010; 88 (14): 3144–3154.
21. Strokin M., Chechneva O., Reymann K. G., Reiser G. Neuroprotection of rat hippocampal slices exposed to oxygen-glucose deprivation by enrichment with docosahexaenoic acid and by inhibition of hydrolysis of docosahexaenoic acid-containing phospholipids by calcium independent phospholipase A2. *Neuroscience* 2006; 140 (2): 547–553.
22. Hoda M. N., Singh I., Singh A. K., Khan M. Reduction of lipoxidative load by secretory phospholipase A2 inhibition protects against neurovascular injury following experimental stroke in rat. *J. Neuroinflammation* 2009; 6: 21–26.
23. Меньшикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и соавт. Окислительный стресс: прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово; 2006.
24. Ашмарин И. П., Стуколов В. П., Ещенко Н. Д. Биохимия мозга. СПб.: изд-во Санкт-Петербургского университета; 1999.
25. Calabrese V., Guagliano E., Sapienza M. et al. Redox regulation of cellular stress response in neurodegenerative disorders. *Ital. J. Biochem.* 2006; 55 (3–4): 263–282.
26. Hong Y., Yan W., Chen S. et al. The role of Nrf2 signaling in the regulation of antioxidants and detoxifying enzymes after traumatic brain injury in rats and mice. *Acta Pharmacol. Sin.* 2010; 31 (11): 1421–1430.
27. Дас Д. К., Молик Н. Превращение сигнала гибели в сигнал выживания при редокс-сигнализации. *Биохимия* 2004; 69 (1): 16–24.
28. Petrushanko I., Bogdanov N., Bulygina E. et al. Na-K-ATPase in rat cerebellar granule cells is redox sensitive. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006; 290 (4): R916–R925.
29. Булыгина Е. Р., Ляпина Л. Ю., Болдырев А. А. Активация глутаматных рецепторов ингибирует Na/K-АТРазу гранулярных клеток мозжечка. *Биохимия* 2002; 67 (9): 1209–1214.
30. Frangogiannis N. G. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 2007; 97 (5): 738–747.
31. Kahles T., Luedike P., Endres M. et al. NADPH oxidase plays a central role in blood-brain barrier damage in experimental stroke. *Stroke* 2007; 38 (11): 3000–3006.
32. Kutsuna S., Tsuruta R., Fujita M. et al. Cholinergic agonist physostigmine suppresses excessive superoxide anion radical generation in blood, oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in rats with forebrain ischemia/reperfusion. *Brain Res.* 2010; 1313: 242–249.
33. Weydert C. J., Cullen J. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat. Protoc.* 2010; 5 (1): 51–66.
34. Saran M. To what end does nature produce superoxide? NADPH oxidase as an autocrine modifier of membrane phospholipids generating paracrine lipid messengers. *Free Radic. Res.* 2003; 37 (10): 1045–1059.
35. Segal A. W. How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.* 2005; 23: 197–223.
36. Feeney C. J., Frantseva M. V., Carlen P. L. et al. Vulnerability of glial cells to hydrogen peroxide in cultured hippocampal slices. *Brain Res.* 2008; 1198: 1–15.
37. Chan E. C., Jiang F., Peshavariya H. M., Dusting G. J. Regulation of cell proliferation by NADPH oxidase-mediated signaling: potential roles in tissue repair, regenerative medicine and tissue engineering. *Pharmacol. Ther.* 2009; 122 (2): 97–108.
38. Дубинина Е. Е., Гавровская С. В., Кузьмич Е. В. и соавт. Окислительная модификация белков: окисление триптофана и образование битриптоцина в неощущенных делах с использованием системы Фентона. *Биохимия* 2002; 67 (3): 413–421.
39. Sesti F., Liu S., Cai S. Q. Oxidation of potassium channels by ROS: a general mechanism of aging and neurodegeneration? *Trends Cell Biol.* 2010; 20 (1): 45–51.
40. Ansari M. A., Roberts K. N., Scheff S. W. Oxidative stress and modification of synaptic proteins in hippocampus after traumatic brain injury. *Free Radic. Biol. Med.* 2008; 45 (4): 443–452.
41. Nowak T. S., Kiessling J. M. Reprogramming of gene expression after ischemia. In: *Cerebral Ischemia*. W. Walz (ed.). New Jersey, Totowa: Humana Press; 1999.
42. Hardingham G. E. Coupling of the NMDA receptor to neuroprotective and neurodestructive events. *Biochem. Soc. Trans.* 2009; 37 (Pt 6): 1147–1160.
43. Vicente E., Degerone D., Bohn L. et al. Astroglial and cognitive effects of chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Res.* 2009; 1251: 204–212.
44. Раевский К. С., Башкатова В. Г., Ватин А. Ф. Роль оксида азота в гипометаболической патологии мозга. *Вестник РАМН* 2000; 4: 11–15.
45. Silverman R. B. Design of selective neuronal nitric oxide synthase inhibitors for the prevention and treatment of neurodegenerative diseases. *Acc. Chem. Res.* 2009; 42 (3): 439–451.
46. Boultadakis A., Liakos P., Pitsikas N. The nitric oxide-releasing derivative of ferulic acid NCX 2057 antagonized delay-dependent and scopolamine-induced performance deficits in a recognition memory task in the rat. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2010; 34 (1): 5–9.
47. Haase N., Haase T., Seeanner M., Behrends S. Nitric oxide sensitive guanyl cyclase activity decreases during cerebral postnatal development because of a reduction in heterodimerization. *J. Neurochem.* 2010; 112 (2): 542–551.
48. de Bittencourt-Navarrete R. E., do Nascimento I. C., Santiago M. F., Mendez-Otero R. NMDA receptor blockade alters the intracellular distribution of neuronal nitric oxide synthase in the superficial layers of the rat superior colliculus. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2009; 42 (2): 189–196.
49. Matsunaga T., Arakaki M., Kamiya T. et al. Nitric oxide mitigates apoptosis in human endothelial cells induced by 9,10-phenanthrenequinone: role of proteasomal function. *Toxicology* 2010; 268 (3): 191–197.
50. Toda N., Ayajiki K., Okamura T. Cerebral blood flow regulation by nitric oxide: recent advances. *Pharmacol. Rev.* 2009; 61 (1): 62–97.
51. Aruna Devi R., Ramteke V. D., Kumar S. et al. Neuroprotective effect of s-methylisothiourea in transient focal cerebral ischemia in rat. *Nitric Oxide* 2010; 22 (1): 1–10.
52. Lundblad C., Grinde P. O., Bentzer P. Hemodynamic and histological effects of traumatic brain injury in eNOS-deficient mice. *J. Neurotrauma* 2009; 26 (11): 1953–1962.
53. Cai H. X., Li Z. R., Cheng Y. B. et al. Time-order expression of caspase-3 and iNOS in contused human brain tissue. *Fa Yi Xue Za Zhi* 2009; 25 (4): 241–245.
54. Deng Y., Fang W., Li Y. et al. Blood-brain barrier breakdown by PAF and protection by XQ-1H due to antagonism of PAF effects. *Eur. J. Pharmacol.* 2009; 616 (1–3): 43–47.
55. Sabri M., Aj J., Knight B. et al. Uncoupling of endothelial nitric oxide synthase after experimental subarachnoid hemorrhage. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2010; 31 (1): 190–199.
56. Lata S., Aruna Devi R., Bhadoria B. K. et al. Neuroprotective effect of 5,7,3',4',5'-pentahydroxy dihydroflavanol-3-O-(2''-O-galloyl)-beta-D-glucopyranoside, a polyphenolic compound in focal cerebral ischemia in rat. *Eur. J. Pharmacol.* 2010; 626 (2–3): 205–212.
57. Zhuang P., Ji H., Zhang Y. H. et al. ZJM-289, a novel nitric oxide donor, alleviates the cerebral ischemic-reperfusion injury in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2009; 87 (12): 85–89.
58. Amantea D., Bagetta G., Tassorelli C. et al. Identification of distinct cellular pools of interleukin-1beta during the evolution of the neuroinflammatory response induced by transient middle cerebral artery occlusion in the brain of rat. *Brain Res.* 2010; 1313: 259–269.
59. Жукова А. Г., Сазонова Т. А., Заржецкий Ю. В. и соавт. Тканеспецифичность ответа системы про- и антиоксидантов после реанимации. *Общая реаниматология* 2005; I (3): 37–41.
60. Saleh M. C., Connell B. J., Saleh T. M. Ischemic tolerance following low dose NMDA involves modulation of cellular stress proteins. *Brain Res.* 2009; 1247: 212–220.

Поступила 04.05.11