

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ПОВРЕЖДЕНИИ НЕЙРОНОВ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

А. В. Киселева¹, Ю. А. Чурляев¹, Е. В. Григорьев^{2,3}

¹ НИИ общей реаниматологии РАМН (Филиал), Новокузнецк

² ГОУВПО «Кемеровская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития», Кемерово

³ УРАМН НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН, Кемерово

Role of Nitric Oxide in Neuronal Damages in Critical Conditions

A. V. Kiseleva¹, Yu. A. Churlyayev¹, Ye. V. Grigoryev^{2,3}

¹ Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Novokuznetsk

² Kemerovo State Medical Academy, Ministry of Health and Social Development, Kemerovo

³ Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo

Представленный литературный обзор включает в себя современные положения о роли оксида азота и его метаболизма в развитии энцефалопатий у больных в критическом состоянии. Описаны механизмы участия оксида азота в нейротоксичности, индукции апоптоза нейронов, варианты участия оксида азота в развитии ишемии головного мозга, очаговом повреждении головного мозга при тяжелой черепно-мозговой травме. Дается краткий обзор экспериментально обоснованных методов терапии, направленных на коррекцию повреждения нейронов, опосредованных оксидом азота (модуляция синтеза оксида азота, антиоксиданты). **Ключевые слова:** ишемия головного мозга, травматические повреждения головного мозга, оксид азота, варианты синтазы оксида азота, нейротоксичность, апоптоз, пути коррекции.

The presented review of literature covers the current notions of the role of nitric oxide and its metabolism in the development of encephalopathies in critically ill patients. The mechanisms of nitric oxide involvement in neurotoxicity, neuronal induction of apoptosis, and the types of nitric oxide involvement in the development of brain ischemia, focal cerebral damage in severe brain injury are described. A concise review of the experimentally founded therapy options aimed at correcting nitric oxide-induced neuronal damage (modulation of nitric oxide synthesis, antioxidants) is given. **Key words:** brain ischemia, brain traumatic injuries, nitric oxide synthase variants, neurotoxicity, apoptosis, correction modes.

Открытие роли оксида азота (NO) как полифункционального физиологического регулятора явилось одним из крупных достижений биологии. Оксид азота – уникальный вторичный мессенджер, высоколабильный, короткоживущий свободный радикал, *in vivo* он быстро деградирует до нитритов (NO₂⁻) и затем нитратов (NO₃⁻) [1]. NO образуется из аминокислоты L-аргинина под действием фермента синтазы оксида азота (NO-синтазы, NOS) [2].

Производство оксида азота в организме млекопитающих катализируют три изоформы фермента NOS, две из которых – постоянно функционирующие ферменты: нейрональная (NOS I или nNOS) и эндотелиальная (NOS III, или eNOS) NO-синтазы. Изоформы NOS I и NOS III, катализирующие синтез NO в небольших количествах, постоянно экспрессируются, соответственно, в нейронах и эндотелиальных клетках, поэтому называются конститутивными; для активации этих ферментов необходимы ионы Ca²⁺ и кальмодулин.

NOS I типа представлена в 2% нейронов мозга. Нейроны, содержащие NOS, характеризуются сильно разветвленной системой отростков. Таким образом, соседствующие с ними нервные клетки, не содержащие NOS, находятся в «сфере влияния» нейронов, продуцирующих NO [4]. NOS III типа содержится главным образом в клетках эндотелия сосудов мозга. Также NOS этого типа была обнаружена в пирамидных нейронах гиппокампа и астроцитах. Эта форма NOS, функциональ-

но сходная с нейрональной NOS, отличается от последней по своему аминокислотному составу и кодируется другим геном. В отличие от вышеназванных изоформ, индуцибельная NOS (NOS II или iNOS) – эпизодически функционирующий фермент. Экспрессия этой изоформы индуцируется провоспалительными цитокинами, бактериальными липополисахаридами, катехоламинами [5].

В кровеносном русле, в межклеточном веществе и внутри клеток NO подавляет рост и размножение микроорганизмов многих видов [6]. В присутствии NO угнетается синтез белка в клетках, митоз клеток, подавляется пролиферация атипических клеток. Известно, что NO участвует в контроле сосудистого тонуса, как антагонист адренергической системы. Он ингибирует агрегацию тромбоцитов и их адгезию на стенке сосуда. NO способствует релаксации не только стенок сосудов, но и желудочно-кишечного тракта [7]. NO функционирует в центральной и периферической нервной системе. Он регулирует активность органов дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы через эфферентные нервы. NO также оказывает влияние на секреторные ткани и клетки.

Прямые эффекты оксида азота, как вторичного мессенджера, связаны его взаимодействием с гем-содержащими белками и, в первую очередь, с растворимой гуанилатциклазой, катализирующей синтез цГМФ в клетках. Хотя NO может влиять на клеточные функции путем прямой (нитрозилирование и нитрирование) или не прямой (метилирование и рибозилирование) посттрансляционной модификации белков, основной физиологический сигнальный путь NO проходит через активацию гуанилатциклазы, образование цГМФ и сопутствующее фосфорилирование белков [8]. Достаточно все-

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Григорьев Евгений Валерьевич
E-mail: grigoriev@mail.ru

го 5–10 нмоль NO, чтобы активировать гуанилатциклазу. При вазоспазме регистрируются недостаточная экспрессия гена гуанилатциклазы и пониженные уровни цГМФ, что приводит к ухудшению релаксации сосудов мозга в ответ на NO [9]. Помимо регуляторных функций, NO влияет на цитотоксическую/цитостатическую активность, выступая одним из основных эффекторов клеточной иммунной системы. Цитотоксическое/цитостатическое действие NO обусловлено его способностью продуцировать в реакции с супероксидным радикалом пероксинитрит (ONOO⁻).

Ни супероксид, ни NO нетоксичны *in vivo*, благодаря эффективным механизмам минимизации их накопления. Супероксид быстро удаляется ферментом супероксиддисмутазой (СОД). NO диффундирует из тканей в эритроциты, где он превращается в нитрат в реакции с оксигемоглобином. NO является биологической молекулой, которая реагирует с супероксидом быстрее, чем СОД и продуцируется в достаточно высоких концентрациях, превышающих эндогенный уровень СОД [10]. Как сильный окислитель, пероксинитрит обладает высокой степенью цитотоксичности, окисляя сульфидрильные группы и тиоэфирные связи в пептидах, белках и липидах [11]. Также NO способен нитрировать и гидроксилрировать ароматическое кольцо в гуанозине (повреждая ДНК), тирозине, триптофане и токофероле [12]. Это пагубное влияние NO радикалов может нарушать процессы клеточной сигнализации и приводить к патологическим изменениям [13].

Другим механизмом цитотоксичности пероксинитрита служит его взаимодействие с супероксиддисмутазой. Реагируя с ионами металлов, входящих в состав супероксиддисмутаз, пероксинитрит вызывает образование реактивного и высокотоксичного иона нитрозония (NO²⁺), который в свою очередь связывается с фенольными группами, образуя нитрофенолы [14]. Образование нитроксильного радикала, наряду с другими реактивными формами кислорода, является ключевым звеном деструкции биомембран нервных клеток при ишемическом, травматическом, судорожном и некоторых других воздействиях. Помимо этого, нитрирование белков увеличивает их антигенность, что способствует развитию аутоиммунных процессов в нервной системе.

Высокие концентрации NO или пероксинитрита индуцируют клеточную смерть по пути апоптоза либо некроза. Сигнальные пути инициации апоптоза и некроза часто оказываются общими, а реализация того или иного варианта зависит от разных причин, например, от концентрации АТФ: при отсутствии в клетке АТФ при апоптозе на этапе активации каспаз развивается некроз [15]. Факторы, определяющие клеточно-специфичную чувствительность к NO-опосредованному апоптозу могут быть связаны с энергетическим состоянием клетки, активацией сигнального каскада каспаз, высвобождением митохондриального цитохрома С, либо регуляцией экспрессии генов [16].

Гибель клеток при апоптозе по митохондриальному пути связана с высвобождением митохондриального цитохрома С в цитозоль, активацией сигнальных путей апоптоза и эффекторных каспаз. Цитохром С – один из ключевых ферментов дыхательной цепи в митохондриях и одновременно один из важнейших белков в реализации митохондриального пути апоптоза. В цитозоле цитохром С активирует сигнальный каскад апоптоза, приводящий в результате к деградации ингибитора каспазо-зависимой ДНК-азы (CAD), активации CAD и фрагментации ДНК. В митохондриях NO обратимо связывается с митохондриальными FeS-содержащими ферментами, такими, как аконитаза, комплексы I и II дыхательной цепи митохондрий, а также с цитохром С-оксидазой (комплекс IV), тем самым ингибируя синтез АТФ [8]. NO-опосредованные повреждения ДНК приводят к накоплению белка p53, который вызывает остановку клеточного цикла путем увеличения экспрессии ингибитора циклин-зависимых киназ p21, либо апоптоз через усиление экспрессии гена *bax*. Накопление p53 играет критическую роль в NO-индуцированной клеточной

смерти. Накопление p53 в клетках снижает экспрессию iNOS и eNOS, что приводит к уменьшению синтеза NO. Этот факт может играть роль как в регуляции апоптоза, так и в подавлении производства генотоксических количеств NO.

NO – опосредованный апоптоз нейронов может индуцироваться также по сигналу эндоплазматического ретикулума (ЭР), стресс ЭР ведет к активации каспазы-12, которая затем прямо активирует каспазу-9 без участия цитохрома С или каспазы-3 [17]. Кроме того, участие NO в апоптозе связано с его взаимодействием с некоторыми сфинголипидами, такими, как церамиды и сфингозин-1-фосфат [18]. При NO – опосредованном апоптозе нейронов происходит ингибирование убиквитин-зависимого механизма, при этом неизвестно, является ли ингибирование протеасом следствием, либо одной из причин запуска апоптотического сигнального каскада [19].

Таким образом, NO – индуцированный апоптоз включает снижение митохондриального трансмембранного потенциала, высвобождение цитохрома С из митохондрий, активацию каспаз, конденсацию хроматина, фрагментацию ДНК, увеличение экспрессии белка p53, активацию экспрессии проапоптотических генов, таких, как *bax* и p21-ингибитор циклин-зависимых киназ, снижение экспрессии антиапоптотических генов *bcl-2* и *bcl-XL* [8, 20]. Усиление экспрессии белков семейства *bcl-2* предотвращает апоптоз, уменьшая передачу сигналов на супрессор p53 и блокируя активацию каспаз.

NO активирует в клетке растворимую гуанилатциклазу. Повышение внутриклеточного уровня цГМФ способствует уменьшению концентрации кальция и увеличивает образование белков-ингибиторов каспаз [21, 22]. Другие антиапоптотические механизмы воздействия NO связаны с индукцией синтеза белков теплового шока HSP-32 и HSP-70, которые угнетают активность каспаз и стабилизируют мембраны митохондрий [23]. Одну из ключевых ролей в подавлении апоптоза, а также воспаления играет активация оксидом азота гемоксигеназы-1 с увеличением продукции CO, который активирует гуанилатциклазу и p38-митоген-зависимую протеинкиназу [24].

Перекрестная связь между разрушительными и защитными принципами в результате накопления NO определяет его роль в повреждении клетки. Баланс между про- и антиапоптотическими сигнальными механизмами, их активация или дезактивация в результате синтеза NO, позволяет клеткам либо выжить, либо выходить в апоптоз.

Роль оксида азота в нейрональном повреждении при ишемии

В мозге оксид азота продуцируется двумя Ca²⁺/кальмодулин-зависимыми изоформами NOS (eNOS и nNOS), которые синтезируют наномолярные количества NO в ответ на транзиторное повышение внутриклеточного Ca²⁺. NO, вырабатываемый eNOS и nNOS, играет существенную роль в контроле мозгового кровотока, тогда как NO, синтезированный nNOS, также функционирует как нейротрансмиттер и участвует в синаптической передаче, модуляции нейроэндокринных функций, механизмах формирования памяти и поведенческой активности [25].

Ишемия мозга сопровождается развитием сложных биохимических каскадов в нейронах вследствие резкого снижения уровня энергетического метаболизма этих клеток и нарушения их ионного баланса. Взаимодействие избыточных концентраций, возбуждающих нейромедиаторов (главным образом, глутамата), с NMDA-рецепторами цитоплазматической мембраны приводит к резкому увеличению концентрации свободного кальция в цитоплазме нервных клеток. Содержание свободного кальция возрастает также в результате открытия потенциалзависимых ионных каналов при деполяризации нейронов, а также выхода кальция из внутриклеточных депо (митохондрий, эндоплазматического ретикулума), что приводит к активации nNOS и eNOS в ишемизированных тканях [26, 27]. Пониженная активность сохраняется по крайней ме-

ре 10 дней после индукции при фокальной ишемии, феномен отражает снижение количества nNOS-экспрессирующих нейронов, деградацию nNOS и ингибирование nNOS-активности iNOS-синтезируемым NO на поздней стадии ишемии [28].

Вслед за ранним транзиторным выбросом NO, образуется вторая волна гиперпродукции NO, которая развивается через несколько часов после начальной ишемии и сохраняется около 4–7 дней [27]. Это мощное и продолжительное высвобождение NO полностью относят на счет индукции экспрессии iNOS, которая определяется в тканевых нейтрофилах, клетках эндотелия сосудов и клетках глии, особенно астроцитах. Усиленный синтез NO сопровождается повышением уровня нитратов и нитритов в крови и ликворе пациентов.

Используя фармакологический (путем применения ингибиторов, специфичных к различным изоформам NOS) и генетический (в опытах на мышах с делециями генов eNOS, nNOS, или iNOS) подходы, была исследована роль каждой изоформы NOS в церебральной ишемии. Было показано, что NO проявляет как нейропротекторные, так и нейротоксические свойства при инсульте, в зависимости от того, какой изоформой NOS он был синтезирован [25]. eNOS-продуцированный NO проявляет положительное влияние в основном путем увеличения коллатерального кровотока в ишемизированной penumbra [29]. Кроме того, предполагаемые дополнительные механизмы включают повышение эндотелиальнозависимой вазорелаксации, предупреждение воспаления и окислительного стресса, ингибирование агрегации тромбоцитов и образования тромбов, предотвращение нейронального апоптоза, снижение активации NMDA-рецепторов, а также мобилизацию стволовых клеток и неоангиогенез [30]. Усиление экспрессии eNOS при назначении статинов [31] или кортикостероидов [32], также, как и применение различных доноров NO [33], оказывало нейропротекторные эффекты в эксперименте.

В противоположность положительно влиянию eNOS, две другие NO-синтазы — nNOS и iNOS оказывают нейротоксическое действие при ишемии мозга. При этом терапевтическое окно для использования селективных ингибиторов iNOS значительно больше, чем для ингибиторов nNOS. Ингибиторы iNOS оказывали нейропротекторный эффект при их применении в пределах 24 часов после окклюзии сонной артерии [28]. Примечательно, что использование неселективных ингибиторов NOS (таких, как L-NAME или N^G-нитро-L-аргинин) приводит к более вариабельным исходам при ишемии в эксперименте вследствие ингибирования активности eNOS [34]. Активация eNOS, предположительно, оказывает нейропротекторное действие путем участия в регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера [35]. Мнение об отрицательных эффектах iNOS при развитии нейронального повреждения отвергается рядом авторов и окончательное решение о роли данной синтазы оксида азота на момент написания обзора отсутствует.

Хотя синтез NO является наиболее широко изученной реакцией, катализируемой NOS, фермент также может генерировать супероксид при локальном дефиците субстрата для производства NO [36]. Способность продуцировать супероксид различна для разных изоформ NOS. nNOS наиболее ассоциирована с продукцией супероксида при снижении уровней L-аргинина и тетрагидробиоптерина, в то время как eNOS намного менее чувствительна к такому снижению [37, 38]. Наконец, iNOS синтезирует наименьшее количество супероксида, по-видимому, из-за способности глии (в частности, астроцитов) продуцировать достаточно L-аргинина, чтобы поддерживать его внутриклеточную концентрацию на высоком уровне даже при стрессе и травме [39].

Роль оксида азота при черепно-мозговой травме

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) характеризуется повреждением тканей мозга, отеком мозга, возрастанием проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и посттравматичес-

кими нарушениями когнитивных и неврологических функций. ЧМТ может запускать множество патофизиологических процессов, включая глутамат-индуцированную цитотоксичность, высвобождение воспалительных цитокинов из клеток мозга (микроглии, нейронов и астроцитов), нарушение кортикального кровотока, окислительный и нитрозативный стресс и, в конечном итоге, клеточную смерть путем апоптоза, либо некроза [40].

Черепно-мозговая травма приводит к повышению активности NOS в коре головного мозга и к увеличению содержания оксида азота в головном мозге [41]. Также наблюдается повышение концентрации NO в плазме крови после ЧМТ, причем степень данного повышения зависит от тяжести полученного повреждения.

Влияние оксида азота и NO-доноров на проницаемость ГЭБ при ЧМТ в настоящее время до конца не выяснено, и литература, посвященная этой проблеме, часто противоречива. Поскольку NO является вазодилататором, он способен модулировать проницаемость ГЭБ. Предполагается, что оксид азота способствует открытию гематоэнцефалического барьера, что приводит к развитию вазогенного отека мозга и вторичных повреждений [42, 43]. NO может нарушать целостность ГЭБ при высвобождении глутамата, при гипертензии и различных *in vitro* моделях неврологических заболеваний. В эксперименте с клетками эндотелия капилляров мозга было показано, что NO увеличивает проницаемость ГЭБ и играет ингибирующую роль в динамической регуляции функций ГЭБ [44].

В то же время в литературе приводятся данные, что при возможной значительной роли синтеза и выброса NO в регуляции тонуса кровеносных сосудов головного мозга эти процессы несущественны для целостности гематоэнцефалического барьера [45]. По данным других авторов NO может снижать проницаемость ГЭБ по механизму, по крайней мере, частично зависимому от синтеза цГМФ и активации цГМФ-зависимой протениназы [35].

Однако чаще нарушения ГЭБ после травмы мозга связывают не столько с токсическим действием самого оксида азота, сколько с повреждающим действием образующегося пероксинитрита и развитием нитрозативного стресса [46]. Кроме того, повышение уровня пероксинитрита способствует накоплению ионов кальция в цитоплазме и активации кальмаиновой системы, что в результате запускает посттравматические нейродегенеративные процессы [47]. Влияние пероксинитрита также проявляется в повреждении ультраструктуры митохондрий и нарушении биоэнергетики, что сопровождается повышением уровня 3-нитротирозина в митохондриях через 30 минут после травмы [48]. 3-нитротирозин считается маркером нитрозативных повреждений и в экспериментальных исследованиях обычно определяется в тканях мозга. В клинике предлагается использовать определение уровня 3-нитротирозина в ликворе в качестве маркера нитрозативного стресса при черепно-мозговой травме [49].

Экспериментальное обоснование терапевтических стратегий, направленных на коррекцию уровня NO в критических состояниях

Многообразие точек приложения оксида азота и его полифункциональность определяют множественность терапевтических подходов в терапии повреждений головного мозга в критических состояниях. Применение антиоксидантов снижает проницаемость ГЭБ и отек мозга, а также восстанавливает активность Na, K-АТФазы [46, 50]. Так для оптимальной фармакологической коррекции окислительных повреждений при тяжелой ЧМТ предлагается использовать два вида антиоксидантов — ловушки пероксинитрита и ингибиторы липидной перекисидации [51]. Также для ослабления токсического эффекта пероксинитрита возможно каталитическое восстановление пероксинитрита в нитрит и дальнейшая изомеризация в нитрат с помощью металлопорфиринов [52].

Внедрение фундаментальных достижений биологических исследований в практическую медицину привело к разработке фармакологических средств, способных влиять на метаболизм NO и его уровень в клетках и тканях. В целом, эти средства можно разделить на две большие группы. Первая группа – это соединения, способные подавлять или усиливать активность NOS и тем самым модулировать генерацию эндогенного NO. В основном это селективные ингибиторы NOS, избирательно подавляющие активность определенной изоформы NOS. Наиболее часто в исследованиях используют ингибиторы iNOS, реже – eNOS и nNOS. nNOS участвует в повреждении ГЭБ, формировании отека мозга и сенсомоторных нарушений на самой ранней стадии ЧМТ [53].

Роль индуцибельной NO-синтазы (iNOS) в развитии нарушений ГЭБ и отека мозга после ЧМТ до конца не выяснена. Увеличение проницаемости ГЭБ, вызванное NO, усиливалось применением доноров NO и уменьшалось ингибиторами индуцибельной NO-синтазы [54, 55]. По данным других авторов, при исследовании влияния различных ингибиторов iNOS на развитие отека мозга и неврологический исход после ЧМТ было показано, что iNOS способствует развитию неврологических нарушений, не влияя на развитие отека мозга [56]. В то же время, применение ингибитора iNOS при субарахноидальном кровоизлиянии снижало экспрессию iNOS и концентрацию метаболитов NO, но не оказывало значимых воздействий на морфологические изменения в нейронах, проницаемость ГЭБ, формирование отека мозга и выживаемость.

Предполагают, что индуцибельная NO-синтаза играет неоднозначную роль в центральной нервной системе при ответе на травматическое повреждение. В эксперименте отмечено положительное влияние iNOS на восстановление церебрального кровотока после черепно-мозговой травмы [57]. При

этом избыток NO, продуцируемый iNOS, ингибирует цитохром С-оксидазу – ключевой фермент митохондриального окислительного фосфорилирования, что приводит к падению уровня АТФ в коре головного мозга. Использование антимисловых олигонуклеотидов для подавления экспрессии iNOS способствует нормализации уровня АТФ [58].

Вторая группа средств, влияющих на уровень NO в организме – вещества, способные продуцировать оксид азота. Это различные доноры NO, а также NONO-аты – соединения, выделяющие при распаде две молекулы NO. В эксперименте показано положительное влияние NONO-атов на снижение проницаемости гематоэнцефалического барьера [59]. Также такие соединения характеризуются вазодилаторной и гипотензивной активностью, способны подавлять агрегацию тромбоцитов и иницировать синтез белков теплового шока.

В целом, оксид азота оказывает как положительное, так и отрицательное воздействие при различных патологических состояниях, включая черепно-мозговую травму. В связи с этим необходимо выделить два отрезка времени, когда содержание NO в мозге возрастает – непосредственно после травмы и несколькими часами-днями позже. Использование в первый период времени ингибиторов nNOS улучшает неврологический исход после ЧМТ. После начального выброса NO его содержание падает, и возникает состояние относительного дефицита, этот период ассоциируют с низким церебральным кровотоком. На этом этапе необходимо повышать уровень NO, применение L-аргинина позволяет улучшить церебральный кровоток [60]. Поздний пик NO после травматического повреждения связан с активностью индуцибельной NOS, использование на данном этапе ингибиторов iNOS оказывает нейропротекторное воздействие на многих моделях ЧМТ в эксперименте.

Литература

- Lam A. A., Hyland K., Heales S. J. Tetrahydrobiopterin availability, nitric oxide metabolism and glutathione status in the hph-1 mouse; implications for the pathogenesis and treatment of tetrahydrobiopterin deficiency states. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2007; 30 (2): 256–262.
- Morris S. M. Arginine metabolism in vascular biology and disease. *Vasc. Med.* 2005; 10 (Suppl 1): 83–87.
- Brace S. R., Tucker J. F., Gibson A. et al. Localization of nitric oxide synthase within non-adrenergic, non-cholinergic nerves in the mouse anococcygeus. *Neurosci Lett.* 1993; 161 (1): 93–96.
- Викторов И. В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга. *Вестник РАМН* 2000; 4: 5–10.
- Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических реакций, методы определения в крови человека. *Лабораторная медицина* 2005; 7: 19–24.
- Alam M. S., Akaike T., Okamoto S. et al. Role of nitric oxide in host defense in murine Salmonellosis as a function of its antibacterial and antiapoptotic activities. *Infect. Immun.* 2002; 70 (6): 3130–3142.
- Thippeswamy T., McKay J. S., Quinn J. P., Morris R. Nitric oxide, a biological double-faced janus-is this good or bad? *Histol Histopathol.* 2006; 21 (4): 445–458.
- Choi B. M., Pae H. O., Jang S. I. et al. Nitric oxide as a Pro-apoptotic as well as Anti-apoptotic Modulator. *J. Bioch. Mol. Biol.* 2002; 35 (1): 116–126.
- Sobey C. G., Favaci F. M. Subarachnoid haemorrhage: what happens to the cerebral arteries? *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1998; 25 (11): 867–876.
- Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.* 2007; 87 (1): 315–424.
- Alvarez B., Radi R. Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins. *Amino Acids* 2003; 25 (3–4): 295–311.
- Reiter T. A. NO chemistry: a diversity of targets in the cell. *Redox Rep.* 2006; 11 (5): 194–206.
- Szabo C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Lett.* 2003; 140–141: 105–112.
- Abe K., Pan L. H., Watanabe M. et al. Upregulation of protein-tyrosine nitration in the anterior horn cells of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol. Res.* 1997; 19 (2): 124–128.
- Nieminen A. L. Apoptosis and necrosis in health and disease: role of mitochondria. *Int Rev Cytol.* 2003; 224: 29–55.
- Kim Y. M., Chung H. T., Simmons R. L., Billiar T. R. Cellular non-heme iron content is a determinant of nitric oxide-mediated apoptosis, necrosis and caspase inhibition. *J. Biol. Chem.* 2000; 275 (15): 10954–10961.
- Chen J., Qin J., Liu X. et al. Nitric oxide-mediated neuronal apoptosis in rats with recurrent febrile seizures through endoplasmic reticulum stress pathway. *Neurosci. Lett.* 2008; 443 (3): 134–139.
- Perrotta C., De Palma C., Clementi E. Nitric oxide and sphingolipids: mechanisms of interaction and role in cellular pathophysiology. *Biol. Chem.* 2008; 389 (11): 1391–1397.
- Peng Z. F., Chen M. J., Yap Y. W. et al. Proteasome inhibition: an early or late event in nitric oxide-induced neuronal death? *Nitric Oxide.* 2008; 18 (2): 136–145.
- Pérez-Rodríguez R., Fuentes M. P., Oliván A. M. et al. Mechanisms of nitric oxide-induced apoptosis in bovine chromaffin cells: Role of mitochondria and apoptotic proteins. *J Neurosci Res.* 2007; 85 (10): 2224–2238.
- Kim Y. M., Chung H. T., Kim S. S. et al. Nitric oxide protects PC12 cells from serum deprivation-induced apoptosis by cGMP-dependent inhibition of caspase signaling. *J. Neurosci.* 1999; 19 (16): 6740–6747.
- Kim P. K., Kwon Y. G., Chung H. T., Kim Y. M. Regulation of caspases by nitric oxide. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002; 962: 42–52.
- Bobba A., Atlante A., Moro L. et al. Nitric oxide has dual opposite roles during early and late phases of apoptosis in cerebellar granule neurons. *Apoptosis* 2007; 12 (9): 1597–1610.
- Chung H. T., Choi B. M., Kwon Y. G., Kim Y. M. Interactive relations between nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO): heme oxygenase-1/CO pathway is a key modulator in NO-mediated antiapoptosis and anti-inflammation. *Methods Enzymol.* 2008; 441: 329–338.
- Guix F. X., Uribealago I., Coma M., Munoz F. J. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog. Neurobiol.* 2005; 76 (2): 126–152.
- Bolanos J. P., Almeida A. Roles of nitric oxide in brain hypoxia-ischemia. *Biochim. Biophys. Acta* 1999; 1411 (2–3): 415–436.
- Grandati M., Verrecchia C., Revaud M. L. et al. Calcium-independent NO-synthase activity and nitrites/nitrates production in transient focal cerebral ischemia in mice. *Br. J. Pharmacol.* 1997; 122 (4): 625–630.
- Moro M. A., Cardenas A., Hurtado O. et al. Role of nitric oxide after brain ischemia. *Cell Calcium* 2004; 36 (3–4): 265–275.
- Salom J. B., Orti M., Centeno J. M. et al. Reduction of infarct size by the NO donors sodium nitroprusside and spermine/NO after transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res.* 2000; 865 (2): 149–156.
- Endres M., Laufs U., Liao J. K., Moskowitz M. A. Targeting eNOS for stroke protection. *Trends Neurosci.* 2004; 27 (5): 283–289.
- Sironi L., Cimino M., Guerrini U. et al. Treatment with statins after induction of focal ischemia in rats reduces the extent of brain damage. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23 (2): 322–327.

32. Hafezi-Moghadam A., Simoncini T., Yang Z. *et al.* Acute cardiovascular protective effects of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase. *Nat. Med.* 2002; 8 (5): 473–479.
33. Willmot M., Gray L., Gibson C. *et al.* A systematic review of nitric oxide donors and L-arginine in experimental stroke; effects on infarct size and cerebral blood flow. *Nitric Oxide* 2005; 12 (3): 141–149.
34. Willmot M., Gibson C., Gray L. *et al.* Nitric oxide synthase inhibitors in experimental ischemic stroke and their effects on infarct size and cerebral blood flow: a systematic review. *Free Radic. Biol. Med.* 2005; 39 (3): 412–425.
35. Wong D., Dorovini-Zis K., Vincent S. R. Cytokines, nitric oxide, and CGMP modulate the permeability of an in vitro model of the human blood-brain barrier. *Exp. Neurol.* 2004; 190 (2): 446–455.
36. Vasquez-Vivar J., Kalyanaraman B., Martasek P. *et al.* Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95 (16): 9220–9225.
37. Xie Z., Wei M., Morgan T. E. *et al.* Peroxynitrite mediates neurotoxicity of amyloid beta-peptide1-42- and lipopolysaccharide-activated microglia. *J. Neurosci.* 2002; 22 (9): 3484–3492.
38. Pignitter M., Gorren A. C., Nedeianu S. *et al.* Inefficient spin trapping of superoxide in the presence of nitric-oxide: implications for studies on nitric-oxide synthase uncoupling. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 41 (3): 455–463.
39. Alderton W. K., Cooper C. E., Knowles R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.* 2001; 357 (Pt 3): 593–615.
40. Gentleman S. M., Leclercq P. D., Moyes L. *et al.* Long-term intracerebral inflammatory response after traumatic brain injury. *Forensic. Sci. Int.* 2004; 146 (2–3): 97–104.
41. Wang Y. B., Ou S. W., Li G. Y. *et al.* Concentrations of nitric oxide in rat brain tissues after diffuse brain injury and neuroprotection by the selective inducible nitric oxide synthase inhibitor aminoguanidine. *Chin. Med. Sci. J.* 2005; 20 (3): 222.
42. Thiel V. E., Audus K. L. Nitric oxide and blood-brain barrier integrity. *Antioxid. Redox Signal* 2001; 3 (2): 273–278.
43. Unterberg A. W., Stover J., Kress B., Kiening K. L. Edema and brain trauma. *Neuroscience* 2004; 129 (4): 1021–1029.
44. Yamauchi A., Dohgu S., Nishioku T. *et al.* An inhibitory role of nitric oxide in the dynamic regulation of the blood-brain barrier function. *Cell Mol. Neurobiol.* 2007; 27 (3): 263–270.
45. Mayhan W. G. Inhibition of nitric oxide synthase does not alter basal permeability of the blood-brain barrier. *Brain Res.* 2000; 855 (1): 143–149.
46. Sharma H. S., Drieu K., Alm P., Westman J. Role of nitric oxide in blood-brain barrier permeability, brain edema and cell damage following hyperthermic brain injury. An experimental study using EGB-761 and Ginkgolide B pretreatment in the rat. *Acta Neurochir. Suppl.* 2000; 76: 81–86.
47. Deng Y., Thompson B. M., Gao X., Hall E. D. Temporal relationship of peroxynitrite-induced oxidative damage, calpain-mediated cytoskeletal degradation and neurodegeneration after traumatic brain injury. *Exp. Neurol.* 2007; 205 (1): 154–165.
48. Singh I. N., Sullivan P. G., Deng Y. *et al.* Time course of post-traumatic mitochondrial oxidative damage and dysfunction in a mouse model of focal traumatic brain injury: implications for neuroprotective therapy. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2006; 26 (11): 1407–1418.
49. Darwish R. S., Amiridze N., Aarabi B. Nitrotyrosine as an oxidative stress marker: evidence for involvement in neurologic outcome in human traumatic brain injury. *J. Trauma.* 2007; 63 (2): 439–442.
50. Delwing D., Delwing D., Bavaresco C. S., Wyse A. T. Protective effect of nitric oxide synthase inhibition or antioxidants on brain oxidative damage caused by intracerebroventricular arginine administration. *Brain Res.* 2008; 1193: 120–127.
51. Hall E. D., Detloff M. R., Johnson K., Kupina N. C. Peroxynitrite-mediated protein nitration and lipid peroxidation in a mouse model of traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 2004; 21 (1): 9–20.
52. Szaby C., Ischiropoulos H., Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007; 6 (8): 662–680.
53. Sharma H. S., Wiklund L., Badgaiyan R. D. *et al.* Intracerebral administration of neuronal nitric oxide synthase antiserum attenuates traumatic brain injury-induced blood-brain barrier permeability, brain edema formation, and sensory motor disturbances in the rat. *Acta Neurochir. Suppl.* 2006; 96: 288–294.
54. Boveri M., Kinsner A., Berezowski V. *et al.* Highly purified lipoteichoic acid from gram-positive bacteria induces *in vitro* blood-brain barrier disruption through glia activation: role of pro-inflammatory cytokines and nitric oxide. *Neuroscience* 2006; 137 (4): 1193–1209.
55. Gahn C., Holmin S., Wiklund P. N. *et al.* Neuroprotection by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase after experimental brain contusion. *J. Neurotrauma* 2006; 23 (9): 1343–1354.
56. Louin G., Marchand-Verrecchia C., Palmier B. *et al.* Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces neurological deficit but not cerebral edema following traumatic brain injury. *Neuropharmacology* 2006; 50 (2): 182–190.
57. Foley L. M., Hitchens T. K., Melick J. A. *et al.* Effect of inducible nitric oxide synthase on cerebral blood flow after experimental traumatic brain injury in mice. *J. Neurotrauma* 2008; 25 (4): 299–310.
58. Huttemann M., Lee I., Kreipke C. W., Petrov T. Suppression of the inducible form of nitric oxide synthase prior to traumatic brain injury improves cytochrome c oxidase activity and normalizes cellular energy levels. *Neuroscience* 2008; 151 (1): 148–154.
59. Winter S., Konter J., Scheler S. *et al.* Permeability changes in response to NONOate and NONOate prodrug derived nitric oxide in a blood-brain barrier model formed by primary porcine endothelial cells. *Nitric Oxide* 2008; 18 (3): 229–239.
60. Cherman L., Hlatky R., Robertson C. S. Nitric oxide in traumatic brain injury. *Brain Pathol.* 2004; 14 (2): 195–201.

Поступила 15.06.09

2009

63rd PostGraduate Assembly in Anesthesiology (PGA)

December, 11–15, New York, USA

HQ@nyssa-pga.org

https://nyssa-pga.net

2010

CSA Winter Hawaiian Seminar

January, 18–22, Ka'anapali Beach, Maui

www.csahq.org

NYSORA World Anesthesia Congress (NWAC)

March, 7–12, Dubai, United Arab Emirates

www.nysoraworld.com

pat.pokorny@nysoraworld.com

CSA Annual Meeting and Clinical Anesthesia Update

May, 14–16, Costa Mesa, California, USA

www.csahq.org

Euroanaesthesia 2010

June, 12–15, Helsinki, Finland

www.euroanesthesia.org

secretariat@euroanesthesia.org

CSA Fall Hawaiian Seminar

November, 1–5, Kona, Hawaii

www.csahq.org