

Х.М. Марков

## **Мозговой кровоток и церебральный инсульт. Часть 2. Патогенез и терапия церебрального инсульта**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр здоровья детей» Российской академии медицинских наук, 119991, Москва, Ломоносовский просп., 2, стр.1

*Приводятся данные, касающиеся патогенеза церебрального инсульта, а также роли оксида азота в механизмах его развития. Проанализированы сведения об изменениях уровней экспрессии группы ферментов NOS, концентраций оксида азота и его метаболитов в ишемизированных отделах мозга. Приведены данные о связи системы NOS с другими ферментными системами. Рассмотрены возможности использования оксида азота в церебральном инсульте.*

**Ключевые слова:** мозговой кровоток, церебральный инсульт, ауторегуляция мозгового кровотока, вазотропные агенты

Kh.M. Markov

## **Brain blood flow and cerebral insult. Part 2. Cerebral insult pathogenesis and therapy**

Scientific Centre of Children Health, 2, b.1, Lomonosovsky prospekt, Moscow, 119991, Russia

*The data relating to the pathogenesis of cerebral stroke, and the role of nitric oxide in the mechanism of its development is presented. Information on the changes of the expression levels of enzymes NOS, concentrations of nitric oxide and its metabolites in the ischemic regions of the brain is analyzed. The data on the connection between the NOS with other enzyme systems is shown. The possibilities of the use of nitric oxide in cerebral stroke are discussed.*

**Key words:** brain blood flow, cerebral insult, blood flow autoregulation, vasotropic agent

### **1. Патогенез церебрального инсульта и система оксида**

Удовлетворение метаболических требований мозга своевременной и адекватной доставкой ему с кровью кислорода, глюкозы, других питательных веществ является абсолютно необходимым условием его нормального функционирования. Он исключительно чувствителен, больше чем любой другой орган, к малейшим, физиологически неоправданным, изменениям этого процесса [56]. Поэтому любые нарушения кровоснабжения мозга чреватые серьезными последствиями. Одним из наиболее частых и грозных из них является церебральный инсульт. После инфаркта миокарда и онкологических заболеваний, церебральный инсульт является третьей ведущей причиной смертности в развитых странах. Различают две основные формы этого заболевания. Чаще всего (80%) встречается ишемический инсульт, возникающий в результате закупорки какой-нибудь церебральной артерии (инфаркт). Эта закупорка может быть вызвана или образованием локального тромба или эмболией (сеп-

тический эндокардит, нарушения ритма сердца, фибрилляция предсердий, при хирургических операциях на сердце). Другим типом церебрального инсульта является субарахноидальное кровоотечение (15—20% случаев), вызываемое разрывом артерии в головном мозге, чаще всего под влиянием высокого системного артериального давления. И в том и в другом случае происходит резкое нарушение кровообращения и снабжения мозга кислородом, вплоть до полного (или почти полного) прекращения кровотока. Это приводит к различного рода церебральным нарушениям (психоэмоциональные, умственные, речь, амнезия, афазия), двигательным, сенсорным и др. Поскольку NO играет ведущую роль в регуляции церебрального кровотока, вполне оправданно возникает вопрос об активности NOS и уровне NO в пораженной области мозга, об их значении для патогенеза и саногенеза церебрального инсульта.

Результаты первых исследований этой проблемы отличаются большой противоречивостью. Судя по величине возникающего после закупорки средней мозговой артерии церебрального инфаркта и сопоставлений этих данных с направленностью и степенью изменений уровня NO можно было думать как о том, что

**Для корреспонденции:** Марков Христо Матеевич, проф., д-р мед. наук, ФГБУ «НЦЗД» РАМН. E-mail: info@nczd.ru

он способствует [13, 65], так и о том, что он тормозит развитие инсульта [75, 77]. Чаще всего сообщалось о повышенном уровне NO в зоне церебрального инфаркта, причем этот факт рассматривался, как весьма неблагоприятный сдвиг, усугубляющий течение возникшего патологического процесса.

Castillo et al. [21a] обследовали 102 больных с острым церебральным инсультом различной этиологии и площади пораженной ткани, а также 24 здоровых людей (контроль). Об уровне NO в церебральной жидкости судили по содержанию в ней нитрита и нитрата — стойких продуктов обмена NO (NO-m) через 24 ч после появления первых симптомов инсульта. Каждый больной подвергался серии клинических исследований и определению величины инфаркта. Концентрация NO-m в цереброспинальной жидкости была значительно выше у больных, чем у здоровых людей. И хотя концентрации NO-m не различались в различных подгруппах больных, они четко коррелировали с величиной разившегося церебрального инфаркта. Кроме того, концентрация NO-m была значительно выше у больных с инсультом, у которых в дальнейшем возникали серьезные неврологические нарушения. Эффект NO не зависел от других проявлений болезни, свидетельствующих о прогрессировании инсульта, таких, как гипертермия, высокое содержание глюкозы в сыворотке крови, воспаление в течение первой недели госпитализации. Все это, по мнению авторов, свидетельствует о важной роли NO в патогенезе церебрального инсульта.

Другими исследователями при определении метаболитов NO в центральной нервной системе *in vivo* с помощью микродиализа при глобальной и фокальной церебральной ишемии, были получены противоречивые данные [30]. Необходимо отметить, однако, что определение NO-m проводилось только в острой стадии (первые сутки) фокальной церебральной ишемии. При определении уровня NO-m в подострой стадии инсульта (24—48 ч), он был всегда существенно повышенным [30]. По данным Zhang et al. [75], повышенная экспрессия eNOS имела место в ишемизированном (по сравнению с неишемизированным) полушарии мозга уже через 1 ч после начала ишемии, достигала максимума через 24 ч и оставалась увеличенной в течение 7 сут. Эти данные получены в экспериментах с постоянной ишемией. Временная же ишемия (с последующей реперфузией) вызывала у отдельных животных экспрессию eNOS только через 6 ч после ее начала, а в большинстве случаев спустя 24 ч, оставаясь повышенной еще 168 ч реперфузии. В конце первых суток экспрессия eNOS повышена, а pNOS понижена.

В отношении того, в какой части сосудов ишемизированной области мозга происходит экспрессия eNOS существуют определенные противоречия. По данным

одних авторов, это имеет место главным образом в артериях и артериолах и существенно слабее в капиллярах [75]. Другие исследователи наблюдали повышенную экспрессию eNOS во всех микрососудах после ишемии, включая капилляры и венулы. Роль вновь образующихся после ишемии сосудов (ангиогенез) в повышении уровня eNOS не является сколько-нибудь значительной, так как ангиогенез происходит в пограничной области между ишемизированной и неишемизированной тканями. Значение этого фактора возможно через 72—168 ч после начала ишемии. Однако повышенная экспрессия eNOS происходит на много раньше — уже через 24 ч, когда образование новых сосудов еще не имеет места [75].

В качестве возможных непосредственных стимулов, вызывающих постишемическое повышение уровня eNOS рассматриваются локальная гипоксия, острое интраюминальное напряжение сдвига (продвижение крови по сосудам и трением об их стенки — shear stress), продукция мозговой тканью, кровеносными сосудами и клетками крови факторов роста и/или воспалительных агентов [44, 68]. Молекулярные механизмы, контролирующие экспрессию eNOS после ишемии могут включать активацию киназной передачи сигналов и факторов транскрипции, таких как индуцируемый гипоксией фактор-1 и активатор протеина-1 [44]. Что касается медиатора, ответственного за повышение уровней eNOS после ишемии, следует иметь в виду два обстоятельства. Первое — повышение уровня eNOS ограничено областью инфаркта. Следовательно, участие в этом процессе диффундирующих субстанций из зоны инфаркта или нейрональное опосредование передачи сигналов в пограничных областях не должны иметь места. Второе — сравнительно отставленное во времени (6—24 ч) повышение уровня eNOS после ишемии существенно увеличивает число возможных триггерных механизмов реакции. Немедленные и отставленные эффекты (связанные с реперфузией) на эндотелиальные клетки, такие как увеличение напряжения сдвига, прилипание лейкоцитов, продукция цитокинов или других субстанций могут участвовать в повышении экспрессии eNOS [13, 44].

Увеличение экспрессии eNOS и уровня NO после ишемии мозга имеет несомненно положительное значение, усиливая вазодилатацию церебральных резистивных сосудов, богато снабженных нитроксидергическими нервами [71], тормозя агрегацию в пограничной с инфарктом области мозга. Поэтому, повышение уровня NO в головном мозге путем введения L-аргинина (субстрата NOS) или NO-доноров тормозит развитие инсульта в ответ на закупорку средней мозговой артерии: площадь поражения существенно меньше, чем у контрольных животных с нормальным

или пониженным уровнем NO. Снижение же уровня NO при введении ингибиторов NOS дает прямо противоположный эффект [54].

Искусственное или естественное повышение уровня церебрального NO имеет явно компенсаторное значение при ишемии мозга. Об этом убедительно свидетельствует ряд экспериментальных и клинических данных о том, что дефицит NO в головном мозге резко увеличивает величину и неврологические последствия ишемического инсульта. Особенно демонстративны в этом плане исследования на крысах Окамото-Аоки (SHR) с наследственно обусловленной артериальной гипертензией, у которых обнаружен пониженный синтез NO в головном мозге. Необходимо отметить в этой связи, что оксид азота нормально продуцируется в центральной нервной системе, оказывая снижающее уровень АД влияние. Показано, что торможение активности NOS в ЦНС вызывает прессорную реакцию [19]. Пониженный уровень NO в головном мозге является одним из механизмов развития гипертензии у спонтанно гипертензивных крыс отеченной выше линии [8,9,19].

Malinski et al. [59] обнаружили значительно меньшее (на 60%) повышение уровня NO в области мозга, подвергнутой ишемии путем перевязки средней мозговой артерии у спонтанно гипертензивных крыс (СГК); размер инфаркта был при этом на существенно больше по сравнению с контрольными животными. При введении последним L-NAME (ингибитора синтеза NO) степень повышения уровня NO после возникновения церебрального инсульта в ответ на закупорку средней мозговой артерии была такой же, как у СГК с генетически обусловленным дефицитом NO в головной мозге [45]. Размер инфаркта был больше на 51—180% у этих животных и по данным других авторов [21]. Вызываемые им неврологические нарушения также были существенно более выраженными, а смертность от инсульта повышена у СГК. Полагают, что такая резко выраженная предрасположенность к инсульту при дефиците NO обусловлена во многом нарушением в этих условиях коллатерального кровотока по анастомозам между передней и задней церебральными артериями. Дело в том, что ишемизированная область мозга не может больше получать нормальное количество крови из закупоренной средней мозговой артерии и единственным, оставшимся источником кровотока для этой области, остаются анастомозы с другими церебральными артериями [70]. Здесь необходимо учесть еще одно обстоятельство. Генетически обусловленная (как у СГК) или приобретенная недостаточность экспрессии eNOS и уровня NO в головном мозге может привести к развитию хронической системной гипертензии, которая вызывает гипертрофию сосудистых гладких мышц и увеличение соотношения стенки сосуда/его просвет [8]. В ре-

зультате возрастает сопротивление кровотоку резистивных сосудов, в том числе коллатеральных, снижение их дилатационных возможностей, а отсюда и всего комплекса компенсаторных механизмов мозга при церебральном ишемическом инсульте.

Однако, роль повышенного уровня системного АД *per se*, в том числе при хронической гипертензии, в патогенезе ишемического инсульта не следует преувеличивать, хотя значение этого фактора, несомненно. Дело в том, что хотя существует определенная зависимость между степенью повышения АД и величиной церебрального инфаркта, нормализация уровня АД антигипертензивной терапией у СГК вызывает лишь небольшое уменьшение размеров инсульта по сравнению с животными с повышенным АД [45]. Кроме того, экспериментальная ДОК-солевая гипертензия с таким же уровнем АД, как у СГК, приводит к возникновению значительно меньшего по размерам ишемического инсульта, по сравнению с СГК, у которых имеет место генетически обусловленный дефицит NO в головном мозге [25, 70]. Следовательно, именно этот дефицит (любой этиологии, не только наследственный) определяет большое значение пониженной экспрессии eNOS и синтезируемого ею оксида азота в патогенезе ишемического инсульта. Повышение же этой экспрессии обуславливает явно протективную, компенсаторную роль NO при церебральной ишемии. Ведущим при этом является способность NO расширять церебральные сосуды и опосредовать эффекты эндотелий-зависимых вазодилататоров, причем не только ацетилхолина, брадикинина, но и таких классических для мозга, как кайнат [28] или N-метил-D-аспартат [61]. Нейрогенная вазодилатация опосредуется нитроксидагическими нервами [71], как уже отмечалось выше. Кроме того, синтезируемый NO синтазой оксида азота тормозит вазоконстрикторные реакции церебральных сосудов и возникновение их спазмов, рост сосудов и их гипертрофию [12] — структурные изменения, которые могут снижать максимальный вазодилаторный потенциал [8]. NO может также оказывать положительное влияние на проницаемость сосудов, в том числе на гематоэнцефалический барьер [29].

О положительной, компенсаторной роли eNOS и NO в патогенезе церебрального инсульта свидетельствуют и некоторые другие данные, касающиеся второй формы этого заболевания — субарахноидальной геморрагии. Дело в том, что она сопровождается повышением тонуса небольших артерий и артериол, а также снижением вазодилаторных эффектов NO и аденозина [41,70], что должно ограничивать кровотечение. Эти эффекты наиболее резко выражены через 48 ч после начала острого кровотечения и приходят к норме спустя 96 ч [67]. Показано, что поскольку субарахноидальная геморрагия не влияет на вызываемые

мые сомато-сензорные потенциалы, уменьшение реакции артериол на сомато-сензорную стимуляцию не обусловлены изменениями увеличенной нейрональной и метаболической активности [66]. NO и аденозин, вазодилатационные эффекты которых уменьшены при субарахноидальном кровотоке, идут параллельно с эффектами этого кровотока на сомато-сензорную стимуляцию и рассматриваются, как медиаторы реакций церебрального кровотока на эту стимуляцию [16]. Таким образом, в зависимости от конкретных условий не только повышение, но и понижение уровня NO (как в данном случае) может иметь компенсаторное, церебропротективное значение [9].

Среди заслуживающих особого внимания данных последних лет, следует отметить и установленное влияние eNOS на активность ферментов, регулирующих функцию нейронов. Установлено, что он участвует в регуляции нейрональной передачи своими эффектами на аксоны [37]. eNOS стимулирует нейрогенез стволовых клеток мозга, возникающий после различного рода поражений его [14,23]. Воспроизводимый на генетическом уровне дефицит eNOS тормозит этот нейрогенез и восстановление функций нейронов после экспериментального инсульта [23]. Таким образом, вызываемая дефицитом NO дисфункция эндотелия нарушает функции не только сосудов, но и нейронов.

Говоря о механизмах положительных терапевтических эффектов NO при церебральном инсульте, необходимо еще раз сказать о нитроксидагической иннервации сосудистой гладкой мускулы, открытие которой привело к новому пониманию некоторых аспектов нейрогенного контроля тонуса резистивных сосудов. Нитроксидагические нервы являются постганглионарными парасимпатическими нервами, стимуляция которых опосредуется оксидом азота и отличает их от холинергических нервов. Термин «нитроксидагические» предлагается для того, чтобы избежать путаницы с «холинергическими» нервами, для которых ацетилхолин играет роль нейротрансмитера. Физиологическая роль нитроксидагических нервов в сосудистых гладких мышцах включает доминантный вазодилататорный контроль церебральных и глазных артерий, а также реципрокную регуляцию с адренергическими сосудосуживающими нервами [71].

Оставался, однако, открытым вопрос, почему в одних случаях повышение уровня NO в головном мозге препятствует развитию церебрального инсульта, обладая выраженным церебропротективным действием, а в других эффект NO в такой же концентрации был прямо противоположным. Впервые механизмы такого двойного, разнонаправленного действия были проанализированы в работах Huang et al. и Nkharana et al. [38, 43]. В одной из работ воспроизведена закупорка средней мозговой артерии у мышей

с разрушенным геном eNOS (т.н. eNOS нокаутных мышей). У этих мышей размер церебрального инфаркта был больше, чем у контрольных с неразрушенным геном eNOS. Эти же авторы сообщили, что у мышей с разрушенным геном nNOS (nNOS нокаутных мышей) вызываемый закупоркой средней мозговой артерии инфаркт был меньше, чем у контрольных. На основе этих данных авторы заключили, что NO обладает двойной ролью в патогенезе фокальной церебральной ишемии. Если его источником является eNOS, он вызывает расширение сосудов и уменьшение величины инфаркта. Если же NO синтезируется нейрональной nNOS, он увеличивает размер инфаркта своим нейротоксическим действием. Эта интерпретация нашла подтверждение в работе Yoshida et al. [74], которые отметили уменьшение размера церебрального инфаркта у мышей, которым вводили 7-нитроиндазол (специфический ингибитор nNOS), а также в ряде других работ.

Ишемическая нейротоксичность синтезируемого nNOS оксида азота обусловлена тем, что образующийся в высоких концентрациях глутамат после церебральной ишемии активирует несколько комплексов постишемических глутаматных рецепторов, главным образом NMDA/Ca<sup>2+</sup>. Последнее, повышая уровень внутриклеточного кальция, активирует несколько кальций-зависимых цитодеструктивных ферментов, в том числе nNOS, что ведет к синтезу NO в большой локальной концентрации с последующим образованием свободных радикалов кислорода (пероксинитрита, в частности) и церебральными морфофункциональными нарушениями. Исследования на трансгенных мышах и применение селективных ингибиторов ясно показали важное значение этой изоформы NOS в патофизиологии церебральной ишемии и патогенезе инсульта [9].

Роль iNOS в патогенезе церебральной ишемии не так однозначна, как eNOS и nNOS. Дело в том, что нейропротективный эффект L-аргинина и NO-доноров теряется через 2 ч после начала церебральной ишемии. Еще важнее тот факт, что если введение L-аргинина производят через 24 ч после этого, величина развивающегося инфаркта больше, чем в контроле (без введения L-аргинина) [6]. Полагают, что эта разница обусловлена появлением iNOS в ишемизированной области мозга через 6—12 ч после вызвавший инфаркт острой церебральной ишемии [50]. Было показано, что iNOS участвует в развитии отставленных во времени нейрональных. У лишенных iNOS мышей размер инфаркта, после острой фокальной ишемии, значительно меньше, чем у мышей, обладающих iNOS [48]. Уместно напомнить в связи с этим, что в отличие от eNOS и nNOS, iNOS является кальций-независимой и индуцируется главным об-

разом цитокинами нейтрофилов при воспалении (в данном случае в очаге церебрального инсульта). Показано, что *iNOS*mRNA появляется только спустя 12 ч после начала ишемии, достигает максимальной концентрации через 48 ч и медленно (в течение 7 сут.) снижается до исходного уровня [11, 47]. Главным источником выделяемого ишемизированным мозгом NO является *iNOS*. Отставленное во времени появление *iNOS* обуславливает раннее нейропротективное и более позднее нейротоксическое действие L-аргинина, так как он является естественным субстратом всех трех изоформ NOS.

Говоря о нейротоксичности *iNOS* и ее участии в развитии воспалительного процесса в зоне церебрального инсульта, необходимо коротко коснуться взаимодействия NO и простаноидов (ПН) в это время и в этой же области мозга. ПН, как и NO, содержатся во всех клетках ЦНС. Их количество там также как и NO, зависит от типа клеток и возраста. В нормальных (физиологических) условиях среди простаноидов преобладают простаглицин ( $PG_{I_2}$ ) и простаглицин  $E_2$  ( $PG_{E_2}$ ). В этих условиях ПН, как и NO, синтезируются конститутивными изоформами циклооксигеназы (COX-1) и eNOS, совместно поддерживая нормальный кровоток в головном мозге и осуществляя локальную профилактику сосудистых нарушений в нем. При этом пониженная активность одной из этих изоформ компенсируется повышением активности другой [7, 77]. Нарушение взаимодействий между ними и одновременное понижение уровней eNO и ПН приводят к возникновению резкой ишемии мозга и развитию обширных церебральных инсультов [45]. Введение L-аргинина не только восстанавливает нормальное содержание NO, но благодаря активации последним циклооксигеназы COX, создает ситуацию, при которой совместное действие повышенных концентраций eNO и простаглицина значительно увеличивают региональный церебральный кровоток, охраняя ткани мозга в период ишемии-реперфузии (более надежно, чем это имеет место под влиянием одного NO) [7].

Совсем другие отношения складываются между NO и ПН. Они генерируются в большом количестве индуцируемыми изоформами *iNOS* и COX-2 при многих патологических процессах в головном мозге, в том числе локальной церебральной ишемии и вызываемом ею ишемическом инсульте [7, 9]. Установлено, что совместное увеличение синтеза NO и простаглицина в этом месте связано с возникающим локальным воспалительным процессом, который принимает активное участие в становлении и прогрессировании ишемических поражений мозга [33]. Продуцируемый иммунновоспалительной изоформой NOS (*iNOS*) оксид азота является одним из главных факторов постишемического воспаления, способствующего поражению тка-

ни мозга [5, 50]. Своего максимума, вызываемая церебральным инсультом индукция *iNOS* в ишемизированной области мозга, достигает спустя 24—48 ч после ишемии в нейтрофилах, инфильтрирующих данную область и клетках церебральных сосудов [50, 72]. Введение ингибитора *iNOS* аминоксидина тормозит развитие воспалительного процесса и уменьшает размер поражения при окклюзии в средней мозговой артерии. У искусственно лишенных на генетическом уровне *iNOS* мышей величина инфаркта и выраженность воспаления также меньше в ответ на окклюзию той же мозговой артерии, чем в контроле [50, 51]. Эти данные указывают на то, что большие количества продуцируемого *iNO* синтазой NO способствуют развитию воспалительного процесса и оказывают токсическое действие на ишемизированную область мозга в поздней стадии церебрального инсульта.

Имеются данные о том, что церебральная ишемия увеличивает и экспрессию COX-2 [64, 72], которая, как и *iNOS*, обладает выраженными провоспалительными свойствами [5, 7]. При этом продолжительность времени, необходимого для максимального увеличения этой экспрессии, такая же, как для *iNOS*. Однако, в отличие от последней, экспрессия COX-2 происходит в нейронах пограничной области мозга — между нормальной и ишемизированной тканями [64]. Ингибитор COX-2 соединение NS-398 уменьшает площадь инфаркта и выраженность воспалительного процесса, вызываемые окклюзией средней мозговой артерии, указывая на то, что поражение мозговой ткани в данных условиях обусловлено активацией COX-2. Таким образом, как *iNOS*, так и COX-2 экспрессируются церебральной ишемией, что способствует развитию воспалительного процесса и поражению ткани мозга после развития церебрального инсульта [5]. Поскольку индукция *iNOS* и COX-2 происходит в одно и то же время, логично допустить, что NO, продуцируемый *iNOS*, активирует COX-2 в ишемизированном участке мозга. Это положение было четко показано в исследованиях Nogava et al. [64], которые установили, что NO, синтезируемый *iNOS*, повышает каталитическую активность и провоспалительное действие COX-2 в зоне церебрального инсульта. На периферии последнего содержащиеся *iNOS* нейтрофилы оказались в близком соседстве с содержащими COX-2 нейронами. Ингибитор *iNOS* аминоксидин уменьшал постишемическую аккумуляцию синтезируемых COX-2 ПН (простаглицин и  $PG_{E_2}$ ) только в ишемизированной области, в которой происходит экспрессия как *iNOS*, так и COX-2. У лишенных *iNOS*-гена животных накопление указанных ПН также уменьшалось.

Механизмы повышения оксидом азота активности COX-2 могут быть разными. Один из них состоит в

том, что NO связывается с гем-группой COX-2. NO может, кроме того, подавлять процесс аутоинактивации COX-2. Следует иметь в виду, что образующийся при реакции NO с супероксидом пероксинитрит и последующая пероксидация липидов могут способствовать высвобождению арахидоновой кислоты (субстрата COX) из клеточной мембраны. Что касается обратного эффекта — повышения простаноидами активности NOS, то его механизм менее изучен. Можно думать о том, что ПН воздействуют на синтез NO через цАМФ, так как последний повышает стабильность NOS mRNA, а также активность ее транскрипции [76].

Как уже отмечалось выше, большое количество NO, синтезируемого iNOS, обладает нейротоксическим эффектом. Оказалось, что этот эффект NO опосредуется повышением активности COX-2, которая также токсически воздействует на церебральные нейроны и так же как NO может, через синтезируемые ею простаноиды, способствовать образованию свободных радикалов кислорода. Полагают, что последние являются главными нейротоксическими соединениями, опосредующими данные эффекты iNOS-NO и COX-2 — ПН на ткани мозга. Есть основание думать, что взаимодействие между NO, COX-2 и свободными радикалами кислорода играет существенную роль в патогенезе и других заболеваний мозга, связанных с воспалением, таких как множественный склероз, болезнь Альцгеймера и др. [64].

В последние годы внимание клиницистов привлекает так называемая эпизодическая (прерывистая) гипоксия (ЭГ) в связи с предполагаемой ролью ее в патофизиологических нарушениях, ведущих к obstructивной остановке дыхания во время сна недоношенных детей и внезапной смерти новорожденных. Дисфункция сердечно-сосудистой системы оказывает существенное влияние на заболеваемость и смертность от этих синдромов. Мозг очень чувствителен к эпизодической гипоксии (ЭГ), обнаруживая четкие пространственные и временные различия возникающих нарушений.

В эксперименте показано, что периоды длительной непрерывной церебральной гипоксии и ишемии стимулируют развитие воспалительных процессов в паренхиме мозга, характеризующихся нейтрофилов, что приводит к дополнительным нарушениям в соответствующих областях [53]. У больных страдающих остановкой дыхания во время сна, имеет место увеличение в плазме крови цитокинов, пуриновых катаболитов, растворимых адгезивных молекул и маркеров оксидативного стресса, указывающих на наличие у них хронического воспаления. Еще более выраженный воспалительный процесс развивается после эпизодической гипоксии, причем церебральные наруше-

ния, возникающие от повторных эпизодов гипоксии мозга, более выражены, чем после единичных периодов непрерывной длительной ишемии, эквивалентной по времени коммутативной длительности гипоксических эпизодов [57]. В головном мозге NO оказывает неодинаковые эффекты на течение воспалительного процесса после церебральной ишемии. В то время как синтезируемый eNO синтазой оксид азота тормозит развитие этого процесса [58] и улучшает перфузию ткани, синтезируемый pNO синтазой оксид азота потенцирует развитие воспалительного процесса и вызывает повреждение нейронов после эпизодической гипоксии [26].

Altay et al. [10] показали, что относительно короткая эпизодическая гипоксия достаточна для того, чтобы дать начало длительному воспалительному процессу в церебральной микроциркуляции. В течение 4 ч лейкоциты прилипают к эндотелию кортикальных венул, а интенсивность реакции еще более усиливается в последующие 24 ч. К 48 ч эта реакция ослабевает. Синтезируемый pNO синтазой NO оказывает сильное влияние на взаимодействие клеток эндотелия и лейкоцитов, начавшееся под влиянием эпизодической гипоксии, так как такое взаимодействие полностью отсутствует у лишенных pNOS мышшей. Вызываемое же эпизодической гипоксией увеличение микрососудистого стаза у лишенных eNOS мышшей свидетельствует о том, что синтезируемый eNO синтазой NO ограничивает воспалительную реакцию церебральных микрососудов после эпизодической гипоксии. eNOS может также предотвращать повреждение нейронов при вызываемых эпизодической гипоксией инсультах; гибель пирамидальных клеток гиппокампа имела место только у eNOS мутантных животных.

Изучение механизмов влияния eNOS на вызываемый эпизодической гипоксией воспалительный процесс показало, что этот эффект связан с торможением eNO взаимодействия между клетками эндотелия и лейкоцитами путем блокировки активации ядерного фактора транскрипции NFκB [66]. Это ведет к уменьшению экспрессии селективных и интегринов в области эпизодической гипоксии, а также к торможению NADPH оксидазы нейтрофилов и взаимодействия тромбоцитов с эндотелием. Влияние pNOS на воспалительный процесс после эпизодической гипоксии связано, как полагают [26] с образованием мощного оксиданта пероксинитрита при взаимодействии супероксиданиона с синтезируемым в значительных количествах pNO синтазой оксидом азота. Показано, что резкая кратковременная и эпизодическая церебральные гипоксии сильно увеличивают экспрессию pNOS и синтез ею NO, что способствует образованию пероксинитрита и приводит к повреждению нейронов, причем больше, чем после глобальной длительной ишемии.

## 2. Терапия острого ишемического инсульта

### 2.1. Оксид азота в терапии церебрального инсульта

Лечение острого ишемического инсульта (как и острого инфаркта миокарда) сопряжено с большими трудностями, одна из которых — необходимость принятия срочных мер, так как назначение тромболитических препаратов может быть полезным только в течение не более 3 часов после первых симптомов болезни [63], что на практике возможно лишь у небольшого количества больных. Попытка блокировать развитие патологического процесса спустя несколько часов путем активации глутаматом NMDA-рецепторов и внутриклеточного поглощения кальция оказались бесполезными. Это может быть связано с тем, что соответствующие препараты не могут достичь своего места действия из-за ишемии зоны инфаркта. Установлено, однако, что ишемизированная область мозга спустя 24 ч после начала церебральной ишемии все еще метаболически активна [60], что делает теоретически возможным лечебный эффект фармакологических препаратов в это время и уменьшение размера пораженной ткани.

Говоря о возможном применении NO в терапии церебрального инсульта необходимо иметь в виду действие некоторых патогенных факторов, которые ухудшают состояние ишемизированной области мозга и могут препятствовать эффектам NO. Среди этих факторов особо следует отметить свободные радикалы кислорода (СРК), истощение энергии в клетках и нарушения экспрессии генов, ведущих к апоптотической смерти клеток. Благодаря наличию неспаренного электрона, СРК обладают очень высокой реактогенностью. В нормальных условиях они являются сопутствующими продуктами метаболизма, которые удаляются антиоксидантными ферментами — супероксид дисмутазой, каталазой, глутатион-пероксидазой, а также  $\alpha$ -токоферолом (витамином E), аскорбиновой кислотой и некоторыми другими соединениями. Однако, в ряде случаев системы очищения клеток от СРК быстро насыщаются, что позволяет СРК вступать в различного рода реакции, поражая нуклеиновые кислоты, белки, липиды, углеводы. Это ведет к резкому нарушению нормальных процессов в клетках мозга, вплоть до их гибели. Свободные радикалы кислорода образуются в большом количестве при реперфузии ишемизированной области мозга и активно участвуют в возникновении ее поражений. Значение цитотоксичности СРК ясно проявляет себя у трансгенных мышей, недостаточно экспрессирующих ген супероксид дисмутазы. У таких мышей размер развивающегося инфаркта после ишемии мозга существенно больше, чем у контрольных животных [22]. Введение же внутривенно супероксид дисмутазы, связан-

ной с полиэтиленгликолем, ограничивает величину инфарктов у мышей, подвергшихся ишемии-реперфузии, по сравнению с контролем. Так же у мышей, генетически подготовленных к тому, чтобы экспрессировать повышенные количества супероксид дисмутазы, развитие церебральных инфарктов тормозится [73].

Содержание NOS и синтезируемого ею NO значительно возрастает при острой ишемии мозга [39]. Будучи свободным радикалом кислорода, NO в больших количествах быстро вступает в реакцию с кислородом, что ведет к образованию пероксинитрита, который является мощным оксидантом и высоко токсичным соединением. В высоких концентрациях NO становится нейротоксичным и через другие механизмы, включая опосредуемую железом пероксидацию липидов и истощение энергии в клетках путем разрушения митохондриальных ферментов и нуклеиновых кислот. В повышенных концентрациях NO может также запускать апоптоз и апоптотическую гибель нервных клеток [52].

Из сказанного следует, что восстановление нормального уровня СРК после острой церебральной ишемии должно быть первостепенным терапевтическим мероприятием у таких больных. Это имеет не только важное самостоятельное значение, но одновременно является и необходимым условием для получения лечебного эффекта от применения с этой же целью NO. Очищение ишемизированного мозга от избыточного количества СРК можно добиться, как уже отмечалось, введением антиоксидантных соединений, таких как супероксид дисмутаза, витамины E, C и другие.

Роль NO в патогенезе и терапии церебральной ишемии во многом зависит от изоформ NOS, что подробно обсуждалось выше.

Таким образом, активное участие NO в патогенезе и патокинезе острого церебрального инсульта может служить мишенью для различного рода конкретных терапевтических мероприятий у соответствующих больных. При этом, однако, необходимо учитывать наличие противоположных эффектов NO, обусловленных различными изоформами NOS, секретирующих его и временем, прошедшим после начала возникновения ишемии.

В отношении eNO ситуация предельно ясна: положительного терапевтического эффекта можно ожидать при его применении в ранние часы после инсульта, когда целесообразно вводить L-аргинин [6], а также прямые или косвенные NO-доноры. Вместе с тем, из группы косвенных NO-доноров особо следует отметить статины, поскольку они довольно широко применяются в последнее время для профилактики и лечения церебрального инсульта; при этом они обнаруживают некоторые особенности своего действия,

которые необходимо обязательно учитывать при его применении.

В последние годы было установлено, что статины, такие, как аторвастатин, провастатин, симвастатин, зокор, мевакор оказывают протективное действие на мозг в острой стадии ишемического инсульта, обусловленное повышением ими активности eNOS и eNO [9, 15, 33, 69]. Оказалось, однако, что прекращение приема статинов в острой стадии инсульта нарушает функцию церебральных сосудов и усугубляет поражение мозга. Это имеет место, в частности, когда больные не могут больше принимать статины и приходится отменять их назначение в первые дни после инсульта. Было показано (в том числе на клеточном уровне), что такие осложнения вызваны резким падением уровня eNO сразу после отмены статинов.

Bianco et al. [15] проследили за судьбой 89 больных, перенесших острый ишемический инсульт 3 мес тому назад. 37 из 46 пациентов (60%), у которых терапия статинами была прекращена в первые 3 сут. после инсульта, умерли, в то время как среди 43 больных, у которых эта терапия не была прекращена, смерть имела место только у 16 из них (39%). Даже с учетом возраста и тяжести инсульта, прекращение терапии статином в острой стадии инсульта сопровождалось повышенным в 4,66 раза риском смерти. В другой группе больных быстрое прекращение дачи статинов в острой стадии церебрального инсульта сопровождалось семикратным повышением риска возникновения неврологических нарушений, а также увеличением пораженной области мозга. Эти и другие аналогичные наблюдения свидетельствуют о том, что протективные эффекты терапии статинами не только исчезали после прекращения ее в острой стадии инсульта, но вызываемые ишемией нарушения (нейрологические, морфологические) были более выраженными у таких больных, чем у тех, у которых прием статинов не отменяли так рано.

Необходимо подчеркнуть, что приведенные данные не умаляют значения статинов и других NO-доноров в качестве лечебных средств при церебральном инсульте. Они лишь указывают на необходимость более длительного применения их (не только в острой стадии) во избежании нежелательных осложнений. Кроме того, эти наблюдения ясно демонстрируют протективную роль eNOS и eNO при церебральной ишемии — тесную обратную зависимость между уровнем eNO в ЦНС и тяжестью инсульта [9].

Поскольку eNO защищает мозг от вызываемых инсультом поражения его путем поддержания более высокого уровня церебрального кровотока, интерес представляет тот факт, что аналогичный эффект оказывают и физические упражнения. Установлено, что они увеличивают экспрессию eNOS, улучшают эндо-

телий-зависимое расслабление сосудов и повышают церебральный кровоток [27]. Gertz et al. [34] показали, что величина инфаркта, развивающегося после переязки средней мозговой артерии в эксперименте, меньше у животных, которых до этого заставляли бегать по сравнению с контролем. Этот эффект зависит от eNOS и NO, так как у животных, лишенных eNOS на генетическом уровне, он полностью отсутствует.

Физические упражнения оказывают протективный эффект при церебральном инсульте путем увеличения количества числа прогениторных клеток (progenitor cells) (EPCs), способствуя вызываемому ими образованию новых кровеносных сосудов (ангиогенезу) [55]. Кроме того, физические упражнения повышают уровень эндотелиального фактора роста сосудов, который активирует eNOS и способствует ангиогенезу, а также экспрессии eNOS в сосудах и EPCs. При этом физические упражнения увеличивают вовлечение EPCs в ишемизированную область мозга, плотность сосудов и церебральный кровоток в ишемизированной и неишемизированной областях мозга. Таким образом, физические упражнения оказывают как краткосрочные, так и долгосрочные эффекты на церебральное кровообращение через eNOS и EPCs. Альтернативным путем может быть повышение экспрессии eNOS переносом гена этой изоформы NOS, возможность которого ясно показана в эксперименте Kharana [43].

Среди заслуживающих особого внимания данных последних лет, касающихся обсуждаемой здесь проблемы, следует отметить установленное влияние eNO на активность ферментов, регулирующих функции нейронов. Продуцируемый eNOS оксид азота в эндотелии сосудов оказывает существенное влияние на нейрональную трансмиссию своими эффектами на аксоны [20]. Показано, что eNO стимулирует нейрогенез стволовых клеток мозга, возникающий после различного рода поражений его [22]: дефицит eNOS, воспроизводимый на генетическом уровне, тормозит этот нейрогенез и восстановление функций нейронов после экспериментального инсульта [22]. Таким образом, вызываемая дефицитом eNO дисфункция эндотелия нарушает функции не только сосудов, но и нейронов.

Что касается pNOS и секретируемого ею nNOS как мишени для терапевтических мероприятий при церебральном инсульте, обсуждение этого вопроса требует учета двоякого рода данных. С одной стороны, вызываемая ингибиторами pNOS нейропротекция имеет место только спустя 2 часа после фокальной церебральной ишемии. У животных с травматическим повреждением мозга селективный ингибитор pNOS-7-нитроиндиол существенно улучшает нейро-



логические нарушения при его введении на 30 и 60 мин после повреждения, но после 2 ч становится неэффективным [49]. Кроме того, pNOS играет главную роль в развитии церебральной гиперемии и поэтому торможение pNOS может подавлять важные компенсаторные механизмы при церебральной ишемии. Следует также иметь в виду риск нарушения таких важных нейробиологических функций, как синаптическая пластичность и нейрональная передача сигналов при торможении данного фермента. Необходимо также учитывать данные о нарушенном, агрессивном поведении лишенных NOS животных. Наконец, торможение pNOS может активировать провоспалительный ядерный фактор каппа В, что ведет к индукции iNOS и тем самым косвенно увеличивать повреждение мозговой ткани после церебральной ишемии. Все сказанное вызывает серьезные сомнения относительно применения селективных ингибиторов pNOS в качестве лечебных средств при остром инсульте у людей.

Наиболее подходящим звеном системы NO в качестве лечебного средства при острой церебральной ишемии представляется на сегодняшний день iNOS, т.к. повышенные концентрации этой изоформы NOS возникают спустя несколько часов после начала ишемии и эффекты синтезируемого ею NO длятся несколько дней, обеспечивая тем самым необходимое время для применения других терапевтических средств [73]. Площадь церебральных инфарктов после перманентной окклюзии средней мозговой артерии на 28% меньше и двигательные нарушения выражены существенно слабее у мышей лишенных iNOS по сравнению с контрольными животными, обладающими этим геном [50]. Кроме того, относительно селективный ингибитор iNOS амингуанидин обнаруживает зависимость от времени и дозы нейропротективных эффектов: чем раньше вводится этот препарат и чем выше доза его, тем существеннее уменьшение размеров церебрального инфаркта. Сообщалось об уменьшении размера инфаркта на 68% и 85%, при введении амингуанидина через 1 и 2 ч после острой церебральной ишемии [24]. Кроме того, в отличие от других нейропротективных препаратов, амингуанидин продолжает оказывать значительное нейропротективное действие даже при его назначении спустя 24 ч после начала ишемии, причем величина инфаркта составляла только 33% по сравнению с контролем. При этом степень уменьшения коррелировала с состоянием двигательной активности. Иначе говоря, нейропротективный эффект амингуанидина весьма существен и с функциональной точки зрения.

Необходимо, однако, отметить, что амингуанидин не является абсолютно селективным для iNOS. Например, он тормозит и полиаминоксидазу. Опо-

средуемое этим ферментом выделение 3-аминопропанола в высоких концентрациях после церебральной ишемии обладает прямым нейротоксическим действием, вплоть до апоптотической смерти глиальных клеток. После церебральной ишемии происходит значительное повышение активности полиаминоксидазы, а амингуанидин тормозит последующую гиперпродукцию 3-аминопропанола, вызывая уменьшение величины церебрального инфаркта. Амингуанидин известен также тем, что он предотвращает осложнения, связанные с поражением мелких сосудов при инсулинзависимом диабете (ретинопатия, нефропатия), когда он применяется в течение длительного времени [17].

Способность амингуанидина блокировать нейродеструктивные процессы при острой церебральной ишемии отличает его от других нейропротективных средств, применяемых у людей. Из данных проведенных исследований следует, что эти свойства амингуанидина очень важны для лечения фактически всех больных с острым ишемическим инсультом. Особенно тех, кто поступает в клинику позднее 6 ч после его начала. Показано также, что этот препарат безопасен и хорошо переносится больными [17]. Он может применяться внутривенно и перорально и быть при этом высокоэффективным нейропротективным средством в обоих случаях. Терапевтический потенциал данного и других селективных ингибиторов iNOS при остром церебральном инсульте подвергается в настоящее время дополнительным клиническим испытаниям.

## 2.2. Церебральная ишемическая толерантность

Быстрое проведение реперфузии после ишемии мозга считается наиболее эффективным способом уменьшения области церебрального инфаркта и возникающих нейробиологических нарушений. Оказалось, однако, что сама реперфузия может (как и в сердце) вызвать дополнительные повреждения. Ишемия — реперфузионные поражения мозга становятся в настоящее время актуальной проблемой клинической и экспериментальной неврологии. Проводятся многочисленные исследования с целью найти средства, которые предотвращают или тормозят (уменьшают) возникновение ишемии — реперфузионных поражений мозга.

Мощным нейропротективным феноменом, который делает мозг резистентным к ишемическим повреждениям, является церебральная ишемическая толерантность [66]. В форме «предтолерантности» она воспроизводится предварительными легкими стрессорными воздействиями на мозг до возникновения длительной или постоянной ишемии. Ишемическую предтолерантность мозга можно получить, например, серией кратковременных эпизодов умеренной гипок-

сии [1, 2, 3, 4]. Выше были приведены данные о том, что длительная выраженная гипоксия и, особенно, резкая эпизодическая гипоксия вызывают существенные нарушения мозгового кровообращения. Однако кратковременная неоднократно повторяющаяся умеренная гипоксия (10%  $\text{CO}_2$  во вдыхаемом воздухе) повышает компенсаторные возможности мозга, в результате чего следующая (спустя некоторое время) длительная и выраженная гипоксия переносится мозгом легче; формируется, иначе говоря, гипоксическая предтолерантность церебрального кровообращения (как аналог ишемической предтолерантности сердца). Благоприятный терапевтический эффект может быть получен и созданием ишемической предтолерантности с помощью фармакологических препаратов [42].

Kunz et al. [46] использовали в качестве предварительного стимула ишемической толерантности липополисахарид (ЛПС). Введение его мышам за сутки до закупорки средней мозговой артерии (СМА) уменьшало размер инфаркта мозговой ткани на 68% и улучшало ишемический церебральный кровоток на 114% в области мозга, не затронутой инфарктом. Эти благоприятные эффекты не имели места у мышей, лишенных iNOS. ЛПС сохраняет также функционирование нейронов и сосудов и улучшает кровоток в области мозга, при риске инфаркта. Этот эффект опосредуется синтезируемым iNO синтазой NO. Аналогичные нейропротективные результаты ишемической предтолерантности мозга получены и другими авторами [42]. Однако в условиях клиники (на людях) применение ишемической предтолерантности возможно только в случаях, когда возникновение инсульта предсказуемо, что бывает редко и связано с различного рода техническими и другими трудностями.

Более перспективной в этом отношении является «ишемическая посттолерантность» мозга, которая воспроизводится несколькими короткими циклами реперфузии и реоклюзии сразу после относительно длительной или необратимой региональной или глобальной ишемии. По данным Wang et al. [72-A], ишемическая посттолерантность уменьшает гибель нейронов области СА-1 гиппокампа и теменной коры мозга, являющихся наиболее уязвимыми при ишемии. Нейропротективный эффект ишемической посттолерантности, судя по уменьшению величины инфаркта и других нарушений, вызываемых временной глобальной ишемией (в том числе возможность узнавания и памяти) сохранялись по крайней мере в течение 3-х не реперфузии, указывая на то, что ишемическая посттолерантность действительно предотвращает, а не просто замедляет гибель нейронов после глобальной ишемии. Последующее более подробное изучение этого вопроса показало, что выраженность и продолжительность церебропротективного (как и кардиоп-

ротективного) действия ишемической пред- и посттолерантности зависит от длительности предшествующей ишемии, а также количества, частоты и длительности отдельных эпизодов реперфузии-окклюзии. Аналогичные данные были получены и другими исследователями.

Внимания заслуживает тот факт, что после фокальной или глобальной ишемии мозга имеет место период гиперперфузии, вслед за которым развивается гипоперфузия [42]. При этом как гиперперфузия, так и гипоперфузия препятствуют восстановлению ишемизированного мозга; наблюдается корреляция между количеством нейронов и церебральным кровотоком. В раннем периоде реперфузии вновь поступающий кислород трансформируется в свободные радикалы, так как нарушается передача сигналов по дыхательной цепочке в митохондриях и это препятствует полному использованию кислорода. Было показано, что ишемическая посттолерантность уменьшает гиперперфузию, тормозя тем самым образование чрезмерных количеств свободных радикалов [40]. Последнее рассматривается как ключевой фактор ишемии-реперфузионных нарушений.

Гибель нейронов после глобальной ишемии мозга наступает с некоторой задержкой, причем количество погибших нейронов зависит от длительности периода реперфузии. Имеются данные о том, что смерть нейронов вызывается, по крайней мере, частично, апоптозом [35]. Решающим фактором, вызывающим апоптоз после церебральной ишемии, является выход цитохрома С из митохондрий в цитозоль [60], где он активирует каспазы, запускающие процесс апоптоза. Цитозольный цитохром С появляется в пирамидальных клетках СА-1 области гиппокампа уже через 2 ч после начала реперфузии и достигает максимума через 12 ч. Было также показано, что содержание цитозольного цитохрома С в коре головного мозга увеличивается через 1—3 сут. после 10-минутной ишемии [62]. Ишемическая посттолерантность, вызываемая главным образом оксидом азота, резко уменьшает выделение цитохрома С из митохондрий путем снижения их проницаемости, так как то же самое делает ингибитор митохондриальных пор проницаемости [22, 32]. Иными словами, нейропротективная роль ишемической посттолерантности является результатом торможения выделения цитохрома С из митохондрий, перегрузки их кальцием, избыточного образования СРК и апоптоза. В этих процессах NO играет важную роль, так как он, являясь одним из главных факторов создания ишемической толерантности, препятствует образованию СРК, апоптозу, перегрузке митохондрий кальцием, повышению их проницаемости и выделению им цитохрома С [78].

## Список литературы

1. Кошелев В.Б., Пинелис В.Г., Марков Х.М. и др. Влияние адаптации к высотной гипоксии на развитие структурных изменений резистивных сосудов // Кардиология. — 1985. — 25(1). — С. 81—84.
2. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. — 1998. — 61(7). — С. 902—1006.
3. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю., Смирин Б.В. Продукция и депонирование оксида азота при адаптации и гипоксии // Известия РАН. Серия биологическая. — 1999. — 21. — С. 211—215.
4. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации.
5. Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин-оксид азота // Патол. физиол. exper. med. — 1996. — 1. — С. 34—39.
6. Марков Х.М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система // Успехи физиол. наук. — 2001. — 32(3). — С. 49—65.
7. Марков Х.М. Взаимодействия биорегуляторных систем простаноидов и оксида азота // Патол. физиол. exper. терапия. — 2011 (в печати).
8. Марков Х.М. L-аргинин-оксид азота в терапии болезней сердца и сосудов // Кардиология. — 2007. — 7. — С. 43—54.
9. Марков Х.М. Болезни кровообращения: Монография. — М.: Полиграфсервис, 2011.
10. Altay T., Gonzales E.R., Park T.S. Cerebrovascular inflammation after briea episodic hypoxia: modulation by nNOS and eNOS // J. Appl. Physiol. — 2004. — 96. — P. 1223—1230.
11. Alvarez B., Ferrer-Sueta G., Frezman B.A., Radi R. Kinetics of peroxynitrite reaction with amino acids and human serum albumin // J. Biol. Chem. — 1999. — 274. — P. 842—848.
12. Baumbach G.L., Sigmund C.D., Faraci P.M. Structure of cerebral arterioles in mice deficient in expression of the gene for eNOS // Circulation Res. — 2004. — 95. — P. 822—829.
13. Beasley T.C., Bary F., Thore C. et al. Cerebral ischemia/reperfusion increases eNOS levels by an indomethacin sensitive mechanism // J. Cereb. Blood Flow-Metab. — 1998. — 18. — P. 88—96.
14. Bernal G.M., Peterson D.A. Neural stem cells as therapeutic agents for age-related brain repair // Aging Cell. — 2004. — 3. — P. 345—351.
15. Bianco M., Nombela F., Castellanos M. et al. Statin treatment withdraval in ischemic stroke: a controlled randomized study // Neurology. — 2008. — 70(19). — P. 1720—1728.
16. Britz G.W., Meno J.R., Park S. et al. Time dependent alterations in functional and pharmacological arteriolar reactivity after subarachnoid hemorrhage // Stroke. — 2007. — 38. — P. 1329—1335.
17. Bucala R., Vlassara H. Advanced glycation and products in diabetic renal and vascular disease // Am. J. Kidney Dis. — 1995. — 26. — P. 875—888.
18. Burke A.P., Farb A.C., Malkolm G.T. et al. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary artery disease who died suddenly // N. Engl. J. Med. — 1997. — 336. — P. 1278—1282.
19. Carbera C.L., Bealer S.L., Bohr D.F. Central depressor action of NO is deficient in genetic hypertension // Am. J. Hypertens. — 1996. — 9. — P. 237—241.
20. Carthwaite G., Bartus K., Malcolm D. Signaling from blood vessels to CNS axong through NO // J. Neurosci. — 2006. — 26. — P. 7730—7740.
21. Carswell H.V.O., Anderson N.H., Clark J.S. et al. Genetic and gender influences on sensitivity to focal cerebral ischemia in the stoke-prone spontaneously hypertensive rat // Hypertension. — 1999. — 33. — P. 681—685.
- 21a. Castillo
22. Chan P.H. Role of oxidants in ischemic brain damage // Stroke. — 1996. — 27. — P. 1124—1129.
23. Chen J., Zacharek A., Zhang C. et al. Endothelial NOS regulates brain-derived neurotrophic factor expression and neurogenesis after stroke // J. Neurosci. — 2005. — 25. — P. 2366—2375.
24. Cockcroft K.M., Meistrel M., Zimmerman G.A. et al. Cerebroprotective effects of aminoguanidine in a rodent model of stroke // Stroke. — 1996. — 27. — P. 1393—1398.
25. Coyle P., Heistad D.D. Blood flow through cerebral collateral vessels in hypertensive and normotensive rats // Hypertension. — 1998. — 8 (Suppl. II). — P. 67—71.
26. Eliasson M.J.L., Huang Z., Ferrante R.J. et al. nNOS activation and peroxynitrite formation in ischemic stroke linked to reural damage // J. Neurosci. — 1999. — 9. — P. 5910—5918.
27. Endres M., Laufs U., Liao J.K., Moskowitz M.A. Targeting eNOS for stroke protection // Trends Neurosci. — 2004. — 27. — P. 283—289.
28. Faraci F.M., Breesc K.R., Heistad M.D. Responses of cerebral arterioles to kainite // Stroke. — 1994. — 25. — P. 2080—2084.
29. Faraci F.M., Heistad D.D. Regulation of the cerebral circulation: role of endothelium and potassion channels // Physiol. Rev. — 1998. — 78. — P. 53—97.
30. Fassbender K., Fatar M., Ragoesche A. et al. Subacute but not acute generation of NO in facial cerebral ischemia // Stroke. — 2000. — 31. — P. 2208—2212.
31. Feuerstein G.Z., Wang X., Barone F.C. Role of inflammation in the pathogenesis of cerebral ischemia // Cerebrovascular diseases / Eds. Ginsberg M.D., Bogouslawski J. — Blackwell Science, Cambridge M.A., 1998. — P. 508—573.
32. Galie N., Ghofrani H.A., Torbicki A. et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension // N. Engl. J. Med. — 2005. — 353. — P. 2148—2157.
33. Gaspardone A., Arca M. Atorvastatin: its chinal role in cerebrovascular prevention // Drug 2007. — 67. — Suppl. 1. — P. 55—62.
34. Gertz K., Priller J., Kronenberg G. et al. Physical activity improves long-term stroke outcome via eNOS-dependent augmentation of neo-vascularization and cerebral blood flow // Circul. Res. — 2006. — 99. — P. 1132—1140.
35. Graham S.H., Chen J. Programmed cell death in cerebral ischemia // J. Cereb. Blood Flow. Metab. — 2001. — 21. — P. 99—109.
36. Gupta T.K. Pathophysiology of portal hypertension // Bullieres Clin. Gastroenterol. — 1998. — 1(2). — P. 203—219.
37. Gursoy-Ozdemir Y., Can Y., Dalkara T. Reperfusion-induced oxidative/nitrative injury toneurovascular unit after focal cerebral ischemia // Stroke. — 2004. — 35. — P. 1449—1453.
38. Huang Z., Huang P.L., Ma J. et al. Enlarged infarcts in eNOS knockout mice are attenuated by nitro-L-arginine // J. Cereb. Blood Flow Metab. — 1996. — 16. — P. 981—987.
39. Hundetz A.G., Shen H., Kampine J.P. NO from nNOS plays critical role in cerebral capillary flow response to hypoxia // Am. J. Physiol. — 1998. — 274. — H982—H989.
40. Ignarro L.I., Cirino G., Casino A. et al. NO as a signaling molecule in the vascular system: an overview // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 1999. — 34. — P. 879—886.
41. Ishigaro M., Puryear C.B., Rosenblum W.I. et al. Enhanced myogenic tone in cerebral arteries from a rabbit model of subarachnoid hemorrhage // Am. J. Physiol. — 2002. — 282. — H2217—H2225.
42. Jiang X., Shi E., Nakajima Y., Sato S. Postconditioning, a series of brief interruption of early reperfusion, pre-

- vents neurologic injury after spinal cord ischemia // *Ann. Surg.* — 2006. — 244. — P. 148–153.
43. **Nkharana V.G., Smith L.A., Baker T.A.** et al. Protective vasomotor effects of in vivo recombinant eNOS gene expression in a canine model of cerebral vasospasm // *Stroke.* — 2002. — 33. — P. 782–789.
44. **Karantzoulis F., Antoniou H., Lai S.L.** et al. Characterization of the human eNOS promoter // *J. Biol. Chem.* — 1999. — 5. — P. 3076–3093.
45. **Kidd G.A., Debrick L.W., Brovcovic W.** et al. No Deficiency contributes to large cerebral infarct size. — *Hypertension.* — 2000. — 35. — P. 1111–1118.
46. **Kunz A., Laihac P., Abe T.** et al. Neurovascular protection by ischemic tolerance: role of NO // *Neurology of Disease.* — 2007. — 27. — P. 7083–7093.
47. **Ladecola C., Zhang F., Xu X.** Inhibition of iNOS ameliorates cerebral ischemic damage // *Am. J. Physiol.* — 1995. — 268. — R286–R292.
48. **Ladecola C., Zhang F., Xu S.** et al. Inducible NOS gene expression in brain following cerebral ischemia // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 1995. — 15. — P. 378–384.
49. **Ladecola C., Yang G., Xu S.** 7-Nitroindazole attenuates vasodilation from cerebral parallel fiber stimulation but not acetylcholine // *Am. J. Physiol.* — 1996. — 270. — R914–R919.
50. **Ladecola C., Zhang F., Casey R.** et al. iNOS in the ischemic area of the brain // *Stroke.* — 1996. — 27. — P. 1373–1380.
51. **Ladecola C., Zhang F., Casey R.** et al. Delayed reduction of ischemic brain infarct and neurological deficits in mice lacking the iNOS gene // *J. Neurosci.* — 1997. — 17. — P. 9157–9164.
52. **Ladecola C.** Bright and dark sides of NO in ischemia brain injury // *Trends Neurosci.* — 1997. — 20. — P. 132–139.
53. **Ladecola C., Alexander M.** Cerebral ischemia and inflammation // *Curr. Opin. Neurol.* — 2001. — P. 14. — P. 89–94.
54. **Lang Z.G., Chopp M., Malinski T., Bailey F.** NO changes in the rat brain after transient middle cerebral artery occlusion // *J. Neurol. Sci.* — 1995. — 128. — P. 22–27.
55. **Laufs U., Werner N., Endres M.** et al. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation and enhances angiogenesis // *Circulation.* — 2004. — 109. — P. 220–226.
56. **Lee J.M., Grabb M.C., Zipfel G.J.** Brain Tissue responses to ischemia // *J. Clin. Invest.* — 2000. — 106. — P. 723–731.
57. **Lin B., Globus M.Y., Dietrich W.D.** et al. Differing neurochemical and morphological sequelae of global ischemia: comparison of single and multiple-insult paradigms // *J. Neurosci.* — 1992. — 59. — P. 2212–2223.
58. **Lindauer U., Drieur J., Angswurm K.** et al. Role Of NOS inhibition in leukocyte-endothelium interaction in the pial microvasculature // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 1996. — 16. — P. 1143–1152.
59. **Malinski T., Bailey F., Zhang Z.G., Chopp M.** NO measured by porphyrin microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 1993. — 13. — P. 355–358.
60. **Marchal G., Beaudouin V., Rioux P.** et al. Prolonged persistence of substantial volumes of potentially viable brain tissue after stroke // *Stroke.* — 1996. — 27. — P. 599–606.
61. **Meng W., Tobin J.R., Busija D.W.** Glutamate-induced cerebral vasodilatation is mediated by NO through N-methyl-D-Aspartate receptors // *Stroke.* — 1995. — 26. — P. 857–863.
62. **Muranyi M., Li P.A.** Bongkrekic acid ameliorates ischemic neuronal death in the cortex by preventing cytochrome C release and inhibiting astrocyte activation // *Neurosci. Lett.* — 2005. — 384. — P. 277–281.
63. The National Institute of Neurological Disease and Stroke rt-tPA Stroke study group // *N. Engl. Med.* — 1995. — 333. — P. 1581–1587.
64. **Nagawa S., Zhang F., Ross M.E.** et al. Expression of COX-2 in the ischemic cerebral area // *Neurosci.* — 1997. — 17. — P. 2746–2755.
65. **Navaro-Antelin J., Campos R., Lamas S.** Transcriptional induction of eNOS gene by Cyclosporine A: a role of activator protein-1 // *J. Biol. Chem.* — 2000. — 275. — P. 3075–3080.
66. **Ostrowski R.P., Colohan A.R., Zhang J.H.** Molecular mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage // *Neurol. Res.* — 2006. — 28. — P. 399–414.
67. **Pluta R.M.** Delayed cerebral vasospasm and NO: review and hypothesis and proposed treatment // *Pharmacol. Ther.* — 2005. — 105. — P. 23–56.
68. **Pollok J.S., Carmines K.** Diabetic nephropathy: NO and renal medullary hypoxia // *Am. J. Physiol.* — 2007. — 294. — F28–F29.
69. **Rosengarten B., Dieter A., Manfred K.** Effect of initiation and acute withdrawal of statins on the neurovascular coupling mechanism // *Stroke.* — 2007. — 38. — P. 3193–3198.
70. **Sobey C.G., Quan L.** Impaired cerebral vasodilator responses to NO and PDE V inhibition after subarachnoid hemorrhage // *Am. J. Physiol.* — 1999. — 277. — H1718–H1724.
71. **Toda N., Okamura T.** Nitroxidergic nerve: regulation of vascular tone and blood flow in the brain // *J. Hypertens.* — 1996. — 14. — P. 423–434.
72. **Wang T., Hitron L., Pickel V.M.** Synaptic and vascular association of neuros containing COX-2 and NOS in somatosensory cortex // *Cereb. Cortex.* — 2005. — 15(8). — P. 1250–1260.
- 72-A. **Wang J., Vhen J., Gao Q.** et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion injury // *Stroke.* — 2008. — 39. — P. 983–989.
73. **Yang G.Y., Chan P.H., Chen J.** Human copper-zinc superoxide dismutase transgenic mice are highly resistant to reperfusion injury after focal cerebral ischemia // *Stroke.* — 1994. — 25. — P. 165–170.
74. **Yoshida T., Limmroth V., Ikikura K., Moskowitz M.A.** The NOS inhibitor, 7-nitroindazole, decreases focal infarct volume but not the response to topical acetylcholine in pial vessels // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* — 1994. — 14. — P. 924–929.
75. **Zhang Z.G., Chopp M., Zaloga C.** et al. Cerebral eNOS expression after local cerebral ischemia // *Stroke.* — 1993. — 24. — P. 2016–2022.
76. **Zhang F., Casey R.M., Ross M.E.** et al. Aminoguanidine ameliorates and L-arginine worsens brain damage from intraluminal middle cerebral artery occlusion // *Stroke.* — 1996. — 27. — P. 317–323.
77. **Zhang V., Leffer C.W.** Compensatory role of NO in cerebral circulation of piglet chronically treated with indomethacin // *Am. J. Physiol.* — 2002. — 282. — R400–R410.
78. **Zhang W.H., Fu S.B., Lu F.H.** et al. Involvement of calcium-sensing receptor in ischemia/reperfusion-induced apoptosis in cardiomyocytes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2006. — 347. — P. 872–881.

Поступила 08.06.11