

А.В. Моргун, Н.В. Кувачева, Т.Е. Таранушенко, Е.Д. Хиляжева, Н.А. Малиновская, Я.В. Горина,
Е.А. Пожиленкова, О.В. Фролова, А.Б. Салмина

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Российская Федерация

Современные представления о патогенезе перинатального ишемического повреждения клеток нейроваскулярной единицы головного мозга: молекулы-мишени для нейропротекции

26

Гипоксически-ишемическое поражение головного мозга новорожденного ребенка остается актуальной медицинской и социальной проблемой. Среди множества патологических процессов у новорожденных перинатальные гипоксически-ишемические поражения сами по себе являются основным патогенетическим звеном последующих кровоизлияний, некротических и атрофических изменений головного мозга. В обзоре представлены современные данные об основных механизмах повреждающего гипоксически-ишемического действия на клетки-компоненты нейроваскулярной единицы (нейроны, астроциты, эндотелиоциты, перicyты), а также возникающих при этом нарушениях межклеточных взаимодействий. Патологические изменения, развивающиеся в результате гипоксии-ишемии, описаны с учетом наличия двух фаз повреждения (фаза ишемии и фаза реперфузии) и освещаются индивидуальные изменения каждого компонента нейроваскулярной единицы и их взаимодействие. Рассматриваются основные направления фармакологического воздействия на клеточно-молекулярные и патобиохимические механизмы перинатального гипоксически-ишемического повреждения головного мозга.

Ключевые слова: нейроваскулярная единица, межклеточные взаимодействия, перинатальное гипоксически-ишемическое повреждение головного мозга.

(Вестник РАМН. 2013; 12: 26–35)

В настоящее время актуальность перинатального гипоксически-ишемического поражения головного мозга обусловлена тем, что истинную частоту перинатальных поражений мозга нельзя считать однозначно установленной. Это связано с нечеткостью критериев для дифференцировки неврологической нормы и патологии, пограничных и переходных состояний от нормы к патологии в период новорожденности, особенно с учетом гестационного возраста [1–3].

До сих пор ведутся серьезные дискуссии, посвященные распространенности и диагностике перинатальной гипоксически-ишемической патологии. Представления о рассматриваемой патологии существенно отличаются в России и за рубежом [4, 5].

Согласно исследованиям зарубежных авторов, гипоксически-ишемическая энцефалопатия у доношенных новорожденных встречается с частотой 1,8–25 : 1000, в то время как российские эпидемиологические исследования свидетельствуют о том, что частота постановки данного диагноза достигает 712 на 1000 детей до 1 года [6, 7].

Перинатальная гипоксия остается одной из ведущих причин младенческой смертности и инвалидности. В целом перинатальные поражения нервной системы ведут к инвалидизации почти в 40% случаев [8–10], у доношенных новорожденных — в 15–30%, у недоношенных, в том числе детей с экстремально низкой массой тела, — в 40–60% случаев. В дальнейшем у детей, перенесших гипоксически-

A.V. Morgun, N.V. Kuvacheva, T.E. Taranushenko, E.D. Khilazheva, N.A. Malinovskaya, Ya.V. Gorina,
E.A. Pozhilenkova, O.V. Frolova, A.B. Salmina

Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky, Russian Federation

Current Concepts of Perinatal Ischemic Injury in the Brain Neurovascular Unit: Molecular Targets for Neuroprotection

Perinatal hypoxic-ischemic brain injury is a relevant medical and social problem. Among many pathological processes in the neonatal period perinatal hypoxic-ischemic injury is a major cause of further hemorrhage, necrotic and atrophic changes in the brain. This review presents recent data on the basic mechanisms of the hypoxic-ischemic brain injury along the concept of neurovascular unit (neurons, astrocytes, endothelial cells, pericytes) with the focus on alterations in cell-to-cell communication. Pathological changes caused by ischemia-hypoxia are considered within two phases of injury (ischemic phase and reperfusion phase). The review highlights changes in each individual component of the neurovascular unit and their interactions. Molecular targets for pharmacological improvement of intercellular communication within neurovascular unit as a therapeutic strategy in perinatal brain injury are discussed.

Keywords: neurovascular unit, intercellular communications, perinatal hypoxic-ischemic brain injury.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2013; 12: 26–35)

ишемическое поражение центральной нервной системы (ЦНС), могут развиваться детский церебральный паралич (ДЦП), симптоматическая эпилепсия, слепота, глухота, задержка умственного развития, гидроцефалия.

В указанном контексте основными задачами специалистов-перинатологов являются: 1) внедрение методов комплексной диагностики перинатальной гипоксически-ишемического патологии; 2) применение эффективной медикаментозной нейропротекции; 3) определение прогноза будущего психомоторного развития ребенка; 4) разработка эффективной системы комплексной нейро-реабилитации [11].

Одной из проблем для клиницистов, которые занимаются пациентами, перенесшими гипоксически-ишемическое поражение ЦНС, является недостаточное понимание фундаментальных патологических процессов, происходящих при указанном поражении. В клинически ориентированной литературе часто не принимаются во внимание механизмы повреждения ЦНС, которые остаются в тени, становясь источником сопутствующей и/или последующей патологии [12].

Механизмы, по которым развивается гипоксическое повреждение, реализуются в результате сложного каскада патофизиологических процессов, конечным исходом которых является гибель клеток [13].

Одна из особенностей организации ЦНС заключается в том, что капилляры мозга имеют ряд уникальных структурных и функциональных характеристик, которые отличают их от сосудов других органов и тканей. Имеется тесная анатомо-функциональная связь капилляров мозга, в первую очередь эндотелиоцитов, с нейронами и глиальными клетками, а также перичитами. Такой единый, взаимосвязанный анатомо-функциональный комплекс называют нейроваскулярной единицей (НВЕ), которую чаще всего рассматривают в контексте регуляции избирательной проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

Согласованная работа клеток-компонентов НВЕ приводит к метаболической оптимизации функционирования отдельных групп нейронов, что позволяет максимально эффективно использовать их возможности. На уровне организма в целом это позволяет функционировать ЦНС в условиях относительно ограниченного количества энергии и субстратов. Основные изменения при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС затрагивают именно НВЕ.

Необходимо отметить, что формирование НВЕ не заканчивается в момент рождения организма. В начале постнатального периода продолжается развитие межклеточных взаимодействий (в частности, образуются отсутствовавшие до этого прямые контакты астроцитов с клетками эндотелия, продолжают активные нейрогенез и синаптогенез). Таким образом, молекулярные механизмы перинатального повреждения головного мозга имеют свои особенности, которые, однако, систематически не изучены.

Любые нарушения межклеточных взаимодействий внутри НВЕ приводят к снижению эффективности функционирования головного мозга. При этом максимально повреждаются кора, подкорковые ганглии и связи между ними [14]. Межклеточные взаимодействия в НВЕ реализуются с участием белков плотных контактов, белков щелевых контактов, цитокинов, факторов роста, нейротрансмиттеров [15, 16].

Нарушения в НВЕ, приводящие к изменению проницаемости ГЭБ с формированием отека головного мозга, играют ключевую роль в развитии патологических изменений при гипоксии-ишемии головного мозга.

Экспериментальным образом идентифицированы следующие ключевые участники механизма повреждения и гибели клеток НВЕ при гипоксии.

- Матриксные металлопротеиназы (ММП) вызывают обратимую деградацию белков плотных контактов в ранние сроки от начала ишемии. Позднее они же препятствуют вторичному повреждению ГЭБ во время нейровоспалительной реакции, развивающейся спустя 24–72 ч.
- Циклооксигеназы препятствуют повреждению ГЭБ по мере прогрессирования нейровоспалительной реакции.
- Повреждение ГЭБ в течение первых 3 ч позволяет проникнуть в мозг тканевому активатору плазминогена, что приводит к повышению риска развития кровоизлияния.
- Образование активных форм кислорода способствует изменению секреции и рецепции нейротрансмиттеров с последующим развитием апоптоза и некроза.

Основные механизмы повреждения головного мозга

Гипоксически-ишемическое повреждение головного мозга развивается в два этапа:

- фаза ишемии, когда наблюдается преобладание некротических процессов в ишемизированных областях;
- фаза реперфузии, в которой преобладают процессы апоптоза, выходящие за ишемические области; фаза реперфузии начинается через 2–6 ч после гипоксии-ишемии и обуславливает терапевтическое окно, в течение которого практически все изменения могут носить обратимый характер [17–19].

Фаза ишемии

Гипоксия-ишемия запускает целый каскад цепных реакций, что приводит к анаэробному гликолизу, истощению аденозинтрифосфата (АТФ) и метаболическому ацидозу. Снижение концентрации АТФ приводит к дисфункции системы АТФаз клеток НВЕ, что вызывает деполяризацию клеточных мембран, в первую очередь нейронов, и способствует накоплению внутриклеточного натрия и воды, развитию цитотоксического отека и/или клеточного лизиса с последующим развитием воспалительных реакций.

Развивается т.н. глутаматный удар, связанный с высвобождением глутамата во внеклеточное пространство и его действием на ионотропные рецепторы (AMPA, NMDA). Этот процесс ассоциирован с нарушением нейрон-астроглиального метаболического сопряжения. Избыток глутамата не только индуцирует повреждение клеток-мишеней (прежде всего нейронов), но и изменяет экспрессию молекул, определяющих эффективность межклеточных взаимодействий в НВЕ (например, коннексинов) и ответ клеток на гипоксическое повреждение (например, за счет активности транскрипционных факторов NF-κB, HIF-1α, NAD⁺-метаболизирующих ферментов). В очаге повреждения происходит формирование высокомолекулярных внутриклеточных комплексов — инфламасом. Их активность обеспечивает процессинг и секрецию цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-18, ИЛ-33) и развитие нейровоспаления.

Активированные в очаге нейровоспаления протеазы повреждают нейрофиламенты, вызывают разрывы и на-

рушения целостности цитоскелета и мембран-цитоскелетных взаимодействий, что имеет своим результатом блеббинг и высвобождение мембранных микрочастиц, имеющих антигенный и прокоагулянтный потенциал. Фосфолипазы гидролизуют фосфолипиды с последующим повреждением клеточной мембраны, а также индуцируют высвобождение арахидоновой кислоты с дальнейшей продукцией сосудорасширяющих простагландинов, которые усиливают реперфузию после перенесенного эпизода ишемии.

Феномен эксайтотоксичности, обусловленный избыточной активацией ионотропных глутаматных рецепторов в частности связан с экспрессией астроцитами AMPA рецепторов, которые, в отличие от NMDA-рецепторов, активируются преимущественно при действии избыточных концентраций внеклеточного глутамата. Также на астроцитах установлена экспрессия транспортеров глутамата двух типов (EAAT-1 и EAAT-2) [20], что определяет характер участия этих клеток в процессах нейронастроглиального метаболического сопряжения в условиях избытка глутамата во внеклеточном пространстве. Так, в начальной стадии ишемии астроцитарный EAAT-2 захватывает внеклеточный глутамат и оказывает нейропротективный эффект, однако с увеличением длительности ишемии начинает преобладать высвобождение глутамата из астроцитов и происходит потенцирование нейротоксичности [21].

Интересно, что развивающийся мозг характеризуется большей плотностью глутаматных рецепторов, однако в отличие от взрослого мозга высокая активность NMDA-рецепторов защищает нейроны от повреждения.

Превалирование процессов некроза над запрограммированной клеточной гибелью в этой фазе повреждения может быть связано с истощением энергетических резервов клеток и редокс-модуляцией активности каспаз, что не позволяет эффективно реализовать процесс апоптоза. Вместе с тем в популяции клеток, расположенных перифокально от эпицентра гипоксически-ишемического повреждения, уже в этой стадии инициируется апоптоз, чему способствует повреждение митохондрий и действие провоспалительных цитокинов. Высвобождение из поврежденных клеток АТФ и НАД⁺ способствует активации пуринергических механизмов и НАД⁺-конвертирующих ферментов в очаге гипоксии-ишемии, и это, в свою очередь, определяет характер и степень выраженности повреждения.

Согласованно с активацией NMDA-рецепторов и P₂X₇-рецепторов увеличивается активность паннексиновых каналов (Panx1) [22]. Действие паннексинов реализуется несколькими путями, которые могут иметь результатом как нейропротективное, так и нейротоксическое действие. Установлено, что при активации Panx1 происходит активация каспаз (каспаза-3 и каспаза-7), которые структурно связаны с паннексиновыми каналами, и таким образом интенсифицируется апоптоз.

Интересным является взаимодействие клеток в очаге гипоксии-ишемии посредством пуринергических P₂X₇-рецепторов, коннексинов и паннексинов. В начале фазы ишемии при высвобождении во внеклеточное пространство АТФ происходит увеличение экспрессии и активация P₂X₇-рецепторов в клетках головного мозга в несколько раз, что сопровождается гибелью нейронов, нейровоспалением и апоптозом [23, 24]. Показано, что P₂X₇-рецептор активирует паннексин 1 (Panx1) [25]. В свою очередь, Panx1 участвует в P₂X₇-рецепторзависимой активации NLRP2 инфламмасом (АТФ выступает в качестве триггера процесса формирования инфламماسом), сопровожда-

ющейся каспазозависимым процессингом и секрецией ИЛ-1 и ИЛ-18 [26]. Активация же астроцитов вызывает высвобождение АТФ, что открывает Panx1-каналы, дополнительно высвобождающие АТФ во внеклеточное пространство. Позднее открываются коннексинные каналы, и высвобождение АТФ из клеток приобретает «самоподдерживающийся» характер за счет активности P₂X₇-рецепторов, открывающих Panx1- и Cx43-каналы. Такой механизм многократно усиливается в присутствии активированной микроглии или избытка глутамата, что приводит к повреждению и гибели нейронов, экспрессирующих Panx1 [27]. Высокая концентрация АТФ во внеклеточном пространстве блокирует паннексинные каналы [28]. Однако при продолжающемся гипоксически-ишемическом повреждении достаточной концентрации АТФ во внеклеточном пространстве не наблюдается. В то же время блокада P₂X₇-рецепторов предотвращает гибель экспрессирующих их клеток [29].

В целом основными мишенями для фармакологической коррекции фазы ишемии при повреждении НВЕ головного мозга следует считать коррекцию механизмов захвата, транспорта и метаболизма глутамата, модуляцию активности внутриклеточных сигнальных путей, опосредующих ответ клеток на гипоксию, подавление избыточно активных механизмов пуринергической сигнальной трансдукции, нейровоспаления, окислительного стресса, цитолиза [19, 20, 30–32].

Фаза реперфузии

Известно, что фаза реперфузии ассоциирована не только с восстановлением, но и дополнительным повреждением ткани. Именно на этом этапе происходит увеличение генерации активных форм кислорода, дополнительное неконтролируемое возрастание внутриклеточной концентрации кальция. Каскад молекулярных реакций представлен далее в порядке их возникновения.

1. Приток кальция и образование свободных радикалов

Избыточная генерация активных форм кислорода при реперфузии возникает преимущественно в результате восстановления притока кислорода в клетки на фоне недостаточно восстановившейся работы электрон-транспортной цепи митохондрий, а также вследствие активации метаболизма арахидоновой кислоты. В сочетании с дефицитом АТФ, который развивается в фазу ишемии, эти процессы вызывают избыточный приток кальция через кальциевые каналы, что дополнительно способствует высвобождению во внеклеточное пространство глутамата. Глутамат активирует NMDA- кальциевые каналы, что приводит к дополнительному увеличению концентрации кальция в цитозоле. Это вызывает дополнительное образование свободных радикалов, активацию кальцийзависимых липаз, протеаз и эндонуклеаз.

2. Накопление свободного железа

В фазу гипоксии из-за изменения рН происходит освобождение железа, связанного с белками нейронов и микроглии. При реперфузии и реоксигенации свободное железо способствует реализации реакции Фентона, что приводит к образованию дополнительного количества цитотоксических свободных радикалов [33].

3. Синтаза оксида азота

Оксид азота (NO) является соединением, продуцируемым синтазой оксида азота (NOS), которая существует в

трех изоформах и экспрессируется в нейронах, астроцитах и эндотелиоцитах, а активироваться может за счет микроглии. Фермент начинает активно синтезировать NO в ответ на повышение внутриклеточной концентрации кальция. Эндотелиальная форма NOS обладает нейропротекторной функцией, которая реализуется через NO-опосредованное увеличение перфузии головного мозга [34]. Однако в ситуации реперфузии и реоксигенации после перенесенной перинатальной гипоксии-ишемии NOS активируется избыточно, что ведет к гиперпродукции NO. В дальнейшем постоянная продукция NO производится эндотелиальной формой фермента, которая активируется проникающими через ГЭБ нейтрофилами, макрофагами, а также микроглией. Взаимодействие NO с супероксидным анион-радикалом способствует формированию токсичного пероксинитрита и дальнейшему повреждению мозга [35, 36]. Доказано, что активации NOS способствуют Pаnх астроцитов [37]. При этом наблюдается одновременная активация макрофагов и микроглии в очаге поражения, что усугубляет тяжесть поражения. При подавлении экспрессии Pаnх1 и Pаnх2 выраженность неврологической дисфункции редуцируется [38].

4. Нейровоспаление

В течение 3–12 ч после реперфузии и реоксигенации начинается воспалительная реакция, индуцированная свободными радикалами и высоким уровнем внеклеточного глутамата. Наблюдается повышение концентрации про- и противовоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-10 [39]. В самом начале доминирует противовоспалительный эффект, однако при продолжающихся нарушениях либо тяжелой и длительной гипоксии-ишемии превалируют эффекты провоспалительных цитокинов и запускаются процессы запрограммированной гибели клеток с участием TNF- α , FasL, FasR, DR5, молекул лейкоцитарной клеточной адгезии (ALCAM), ионов кальция, глутамата, свободных радикалов [40]. Продукты деградации клеточных макромолекул инициируют дополнительную активацию инфламасом, что способствует прогрессии нейровоспаления. Установлено, что воспалительные изменения в очаге гипоксии-ишемии поддерживаются на протяжении нескольких месяцев, а также причастны к более обширному поражению мозга и усилению тяжести состояния в отдаленном периоде [41, 42].

5. Активация апоптоза

Индукция апоптоза происходит как в ишемическую фазу, так и в фазу реперфузии различными механизмами и способствует повреждению головного мозга у новорожденных. Чувствительность развивающегося мозга к индукторам апоптоза существенно выше [17].

Апоптоз клеток нейрональной природы характеризуется тем, что он начинается, как правило, с разрушения синаптических ансамблей, сопровождается изменениями ионного гомеостаза нейронов и дисрегуляторными событиями, связанными с нарушением рецепций нейротрансмиттеров и нейрон-глиальных взаимодействий [19]. Это сложный контролируемый процесс, инициируемый физиологическими и патологическими стимулами.

Интересным и неоднозначным является влияние транскрипционного фактора HIF-1 (гипоксия-индуцибельный фактор). HIF-1 является одним из ключевых регуляторов патофизиологических ответов на гипоксию. В нормальных условиях HIF-1 участвует в энергетическом метаболизме (увеличивая экспрессию транспортеров глюкозы и ферментов гликолиза), эритропоэзе

(через индукцию эритропоэтина), ангиогенезе (стимулирует экспрессию VEGF), расширении сосудов (влияние на перicyты), протекции клеток и развитии апоптоза. С одной стороны, активация HIF-1 имеет нейропротективное действие, с другой — оказывает нейротоксическое действие. Чрезмерная индукция HIF-1 в незрелом мозге приводит к преобладанию нейротоксического действия [43]. Нейротоксическое действие HIF-1 реализуется путем участия в индукции апоптоза за счет стабилизации и активации p53, уменьшения синтеза трофических факторов и угнетения пролиферации клеток. Кроме того, HIF-1 участвует в развитии некроза клеток, стимулируя проникновение кальция в клетки, а также усугубляет отек мозга в зоне повреждения путем увеличения проницаемости ГЭБ [17].

В ситуации острой ишемии ткани головного мозга апоптоз регистрируется, как правило, в перифокальной зоне и отсроченно, тогда как клетки в эпицентре ишемического поражения погибают преимущественно путем некроза в первые часы после перенесенного цереброваскулярного повреждения. Развитие ишемического повреждения головного мозга сопровождается разнонаправленными изменениями выраженности процесса апоптоза нейронов. В начальном периоде гипоксии-ишемии отмечается относительно невысокое количество апоптотических клеток, что может свидетельствовать о торможении процесса апоптоза и превалировании некроза в результате действия повреждающего фактора высокой интенсивности. Через 12–24 ч отмечается увеличение интенсивности апоптоза, что связывают с изменением доступности энергетических субстратов [44, 45]. При этом в первую очередь страдают нейроны, в меньшей степени — астроциты, и такое состояние длится до 7 суток [13]. Апоптотические тельца распознаются антигенпрезентирующими клетками, что модулирует спектр продуцируемых в очаге повреждения цитокинов.

6. Подавление синтеза и активности факторов роста

Помимо наличия воспалительной активности в головном мозге, вместе с избыточной продукцией токсичных соединений, таких как пероксинитрит и иные свободные радикалы, после перенесенной гипоксии-ишемии наблюдается подавление образования нейротрофических факторов и угнетение нейрогенеза. Поскольку способность развивающегося мозга восстанавливаться после перинатальной гипоксии-ишемии может напрямую зависеть от синтеза и активности нейротрофических и стимулирующих факторов роста, то подавление эффектов этих факторов играет важную роль в поддержании повреждения головного мозга (до нескольких недель) после перинатальной гипоксии-ишемии [17].

К основным физиологическим трофическим факторам относятся мозговой фактор роста нервов (BDNF), цилиарный нейротрофический фактор (CNTF), сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF). Трофические факторы играют множественную роль в ЦНС: регулируют функции нейронов и астроцитов, стимулируют миграцию клеток-предшественников, дифференцировку развивающихся нейронов и глиальных клеток, обеспечивают трофику и защиту поврежденных нейронов [46].

Вместе с тем уже в заключение этой фазы начинают инициироваться события, связанные с репарацией повреждения (нейрогенез, синаптогенез, ангиогенез), что связано с формированием локального микроокружения (за счет скоординированной экспрессии цитокинов и факторов роста), необходимого для пролиферации, ми-

грации и дифференцировки клеток. Так, например, происходит активация Wnt-сигналинга, имеющего огромное значение в регуляции пролиферации, дифференцировки и миграции клеток-предшественниц в головном мозге после ишемического повреждения, т.е. за счет усиления нейрогенеза [47]. Зафиксирована также активация ангиогенеза и усиление пролиферации и созревания эндотелиоцитов за счет Notch-сигналинга, что необходимо учитывать при коррекции гипоксически-ишемического повреждения ЦНС [48, 49].

В фазу реперфузии основными эффектами успешной фармакологической коррекции повреждения следует считать нормализацию внутриклеточного гомеостаза кальция и функции митохондрий, подавление окислительно-стресса, контролируемое течение апоптоза, коррекцию нейровоспаления и индукцию процессов репарации клеток.

Все указанные события находят свое отражение в клеточных компонентах НВЕ

1. Повреждение базальной пластинки

При гипоксии-ишемии происходит деградация базальной пластинки, потеря целостности экстрацеллюлярного матрикса и изменения конформации молекул адгезии эндотелиоцитов, перицитов и астроцитов, что приводит к возникновению локальных отеков и кровоизлияний [50]. В фазу реперфузии продолжается деградация базальной пластинки, что обусловлено активностью ММР [51]. В частности, зафиксировано повышение экспрессии ММР-9 (желатиназы), что приводит к деградации ламинина экстрацеллюлярного матрикса и базальной мембраны. ММР-1, ММР-8, ММР-13 (коллагеназы) вызывают повреждение коллагена IV, что объясняет увеличение объема поражения и повышение проницаемости ГЭБ [7, 52].

2. Изменения нейрон-астроцитарных взаимодействий

Первыми клетками, реагирующими на перинатальное ишемически-гипоксическое поражение головного мозга, являются астроциты, затем в процесс вовлекаются эндотелиоциты и нейроны.

Изменения, происходящие с астроцитами, носят разнонаправленный характер в начале повреждения и при продолжающемся гипоксически-ишемическом воздействии. В самом начале гипоксически-ишемического поражения зарегистрирована быстрая гибель путем некроза зрелых астроцитов с ускоренной пролиферацией и началом дифференцировки незрелых клеток, которая может сохраняться до нескольких недель. Одновременно с этим на астроцитах отмечается увеличение экспрессии транспортеров глутамата (EAAT, GLAST), глутамин-синтазы (GS), монокарбоксилат транспортера-1 (MCT-1), церулоплазмина, АТФ-зависимых транспортеров семейства ABC (Pgp, SLC). Эти белки-транспортеры оказывают нейропротективное действие, защищая нейроны от последующих эксайтотоксических воздействий и снижая поступление в ЦНС из общего кровотока токсических веществ [53, 54].

Ускоренная пролиферативная активность астроцитов (реактивный астроглиоз) сохраняется в течение нескольких недель. Однако в условиях дефицита энергии, кислорода и избытка свободных радикалов, глутамата и кальция регистрируется активация апоптоза астроцитов [55]. При этом глутамат дополнительно высвобождается во

внеклеточное пространство (вероятно, в связи с увеличенной экспрессией паннексисовых и коннексисовых каналов), вследствие чего усиливается эксайтотоксичность и нейротоксичность, накопление кальция в астроцитах и нейронах [45, 56, 57]. Непосредственное повышение уровня кальция в клетках нейрональной и глиальной природы приводит к активации NOS и увеличению продукции пероксинитрита. Мишенями действия свободных радикалов являются мембраны клеток и митохондрий, что, с одной стороны, инициирует процессы апоптоза, с другой — способствует истощению уровня внутриклеточного НАД⁺, необходимого для обеспечения работы полиАДФ-рибозилполимеразы, контролирующей репарацию ДНК, и сиртуинов, регулирующих ацетилирование белков. Снижение уровня НАД⁺ способствует нарушению работы НАД⁺-зависимых и НАД⁺-конвертирующих внутриклеточных ферментов, NMDA-каналов, усугублению эксайтотоксичного каскада.

Важно отметить, что астроциты являются наиболее устойчивыми к гипоксии-ишемии клетками НВЕ, что объясняется особенностями их энергетического метаболизма (превалирование гликолитической активности) и особенностями экспрессии НАД⁺-конвертирующих ферментов (например, НАД⁺-гликогидролазы/CD38) и НАД⁺-транспортирующих молекул (например, Sx43) [19]. Астроциты сопряжены друг с другом посредством щелевых контактов, регулируемых коннексинами, в основном коннексином 43 и коннексином 30. Установлено, что у животных, не экспрессирующих коннексин 43 в астроцитах, выраженность апоптоза и нейровоспаления после перенесенной фокальной ишемии мозга значительно выше, отмечается увеличение количества коннексинов на астроцитах при гипоксически-ишемических воздействиях, а подавление этого механизма приводит к неблагоприятным последствиям при ишемии головного мозга [45, 58–60], вместе с тем именно щелевые контакты обеспечивают распространение проапоптотических сигнальных молекул между клетками [23].

3. Изменения эндотелиоцитов

Эндотелиоцитам отводится важная роль в НВЕ, они обеспечивают поддержание структурной целостности ГЭБ и участвуют в регуляции локального кровотока в активных зонах мозга [16].

Основные изменения, затрагивающие эндотелиоциты головного мозга, начинаются уже через 30 минут от начала гипоксии-ишемии. Происходит активация каспазы-3 и начинается фрагментация ДНК клеток, инициируется апоптоз. Через 8 ч зафиксировано разрушение белков плотных контактов, а к 48 ч эти изменения достигают своего пика [61]. Все это сопровождается резким повышением проницаемости ГЭБ, что объясняется повреждением белков плотных контактов, окклюдина, клаудина, белка ZO-1, кадгерина и непосредственным разрушением эндотелиоцитов. Указанные повреждения связывают непосредственно с избытком свободного железа, ионов кальция, действием матриксных металлопротеиназ (ММР-2, ММР-3, ММР-9), свободных радикалов [62, 63].

Однако наряду с указанными изменениями отмечается усиление экспрессии и активности некоторых транспортных систем эндотелиоцитов, ответственных за экструдицию токсических веществ и ксенобиотиков, например Pgp, SLC. В связи с тем, что указанные транспортные системы являются энергозависимыми, при продолжающейся нехватке кислорода и дефиците энергии протективные эффекты оказываются недостаточными, одновременно

препятствуя проникновению лекарственных веществ в ЦНС [54]. При повреждении эндотелиоцитов высвобождается большое количество биологически активных молекул, в том числе NO и цитокинов, которые действуют на коннексины астроглии, вследствие чего происходит дополнительное повреждение астроцитов и нарушение нейрон-глиального метаболического сопряжения и глиоваскулярного контроля [64].

Очень интересной и не до конца изученной является ситуация, когда в эндотелиоцитах при гипоксии-ишемии происходит дизрегуляция Rac1 (представитель семейства так называемых малых Rho-ГТФаз). Rac1 в физиологических ситуациях оказывает влияние на целостность межэндотелиальных контактов и контактов эндотелиоцитов с внеклеточным матриксом, стимулирует ангиогенез, ограничивает проницаемость ГЭБ. Однако в условиях гипоксии-ишемии преобладают негативные влияния гиперактивности Rac1: избыточная активация NOS и образование свободных радикалов, усиление апоптоза, подавление синтеза и активности нейротрофических факторов. Поэтому ингибиторы Rac1 являются нейропротекторами: в частности, при их действии усиливается секреция нейротрофических факторов (FGF-5, фибронектина) [65, 66]. Вместе с тем данные о роли Rac1 в повреждении эндотелиоцитов остаются весьма противоречивыми: например, недавно продемонстрировано предотвращение нарушения целостности эндотелия, индуцированного ишемией и реперфузией, за счет активации Rac1 [67].

4. Изменения перицитов

В ишемическую фазу отмечается начало активации и миграции перицитов из обычного месторасположения в микрососудах. В нормальных физиологических условиях перициты за счет сократительной способности регулируют капиллярный кровоток путем изменения просвета микрососудов. Но в условиях гипоксии-ишемии это свойство приобретает пагубные последствия. Избыточное накопление внутриклеточного кальция вызывает чрезмерное сокращение и набухание перицитов, которые вызывают сужение просвета в ишемическую фазу и усиливают гипоксемию. В фазу реперфузии наблюдается образование свободных радикалов и активация MMP,

оказывающих воздействие уже на все клетки-компоненты НВЕ [68, 69].

При непродолжительном воздействии патологического фактора перициты индуцируют усиление экспрессии белков плотных контактов, окклюдина, клаудина и белков лекарственной устойчивости в эндотелиоцитах, а также MMP [70]. Но в условиях длительного гипоксически-ишемического воздействия происходит угнетение продукции указанных белков. В первую очередь это касается нарушений, связанных с белками плотных контактов, окклюдинами и клаудинами. Наблюдается нарушение целостности межэндотелиальных связей, что в сочетании с усилением и нарушением проницаемости ГЭБ (повреждение самих эндотелиоцитов и базальной мембраны), формированием отека в ЦНС, проникновением токсических веществ, активацией MMP, активацией перекисного окисления, нарушением синтеза ростовых факторов (BDNF, CNTF, VEGF, NT-3) приводит к замыканию порочных кругов патогенеза и усугублению процесса повреждения ткани [69, 71].

Итак, все компоненты НВЕ находятся в тесных анатомических и сложных функциональных взаимоотношениях. Изменения при гипоксически-ишемическом поражении затрагивают НВЕ в целом, события в клетках могут начаться одновременно или отсрочено, однако оказывают влияние на другие клетки, тем самым демонстрируя целостность НВЕ как структурно-функциональной единицы. Основные патологические изменения при гипоксически-ишемическом повреждении НВЕ представлены в табл. 1.

Понимание ключевых клеточно-молекулярных и патобиохимических механизмов нарушения метаболизма и клеточных контактов в НВЕ при перинатальном гипоксически-ишемическом повреждении головного мозга позволяет определить перспективы создания новых эффективных фармакотерапевтических технологий нейропротекции и нейрорегенерации в развивающемся и зрелом мозге. Принципы современной терапевтической тактики представлены в табл. 2. В целом изучение межклеточных взаимодействий в НВЕ развивающегося мозга — одно из интересных и многообещающих (с точки зрения практического применения) направлений современной нейробиологии, нейрофармакологии и неонатологии.

Таблица 1. Патологические события в нейроваскулярной единице при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы

| Компонент нейроваскулярной единицы | Основные события |
|------------------------------------|--|
| Базальная мембрана | Повышение проницаемости, деградация |
| Эндотелиоциты | Разрушение межэндотелиальных связей, активация металлопротеиназ, некроз |
| Перициты | Констрикция, снижение синтеза ростовых факторов |
| Астроциты | Активация, изменение работы глутамат-транспортных систем, окислительное повреждение макромолекул |
| Нейроны | Эксайтотоксичность, дисфункция митохондрий, окислительный стресс, апоптоз и некроз |

Таблица 2. Возможные терапевтические тактики при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы

| Средства адресного воздействия | Положительный эффект | Ограничение |
|------------------------------------|---|---|
| 1. Блокаторы ионных каналов | | |
| Блокаторы кальциевых каналов | Уменьшают накопление внутриклеточного кальция | Резкое снижение артериального давления |
| Магнийсодержащие препараты | Уменьшают накопление внутриклеточного кальция | <ul style="list-style-type: none"> • Низкая эффективность • Нарушения гемодинамики у недоношенных детей |
| Ксенон | Антагонист NMDA-рецепторов | Необходимость интубации Снижение FiO ₂ |

| Средства адресного воздействия | Положительный эффект | Ограничение |
|---|--|--|
| Прогестерон и эстрадиол | Предотвращает поступление кальция в клетку, не влияя на NMDA- и AMP-рецепторы Блокирует экспрессию кальцийзависимых генов | Механизм действия до конца не ясен |
| 2. Антиоксиданты | | |
| Аллопуринол и оксипуринол | <ul style="list-style-type: none"> • Ингибирует ксантин-оксидазу • Выводит свободное железо • Связывает гидроксильные группы | Низкая клиническая эффективность у людей |
| Ингибиторы NO-синтазы | Уменьшает синтез NO и свободных радикалов в фазу реперфузии | <ul style="list-style-type: none"> • Нестабильный эффект • Парадоксальное ухудшение в отдельных случаях |
| Ингибиторы продукции простагландинов (индометацин) | Ингибирует циклооксигеназу | Ограничено применяется у доношенных |
| Дефероксамин | Выводит свободное железо, ингибирует реакцию Фентона, уменьшает образование свободных радикалов | Низкая эффективность при отсроченном назначении |
| 3. Противовоспалительная и антиапоптотическая терапия | | |
| Эритропоэтин | Связывается с EPOR на астроцитах и микроглии, снижая провоспалительную активность и проапоптотическое воздействие | Гендерзависимый эффект. Неоднозначные результаты клинических испытаний |
| Мелатонин | Уменьшает активацию микроглии, синтез провоспалительных цитокинов, проапоптотических агентов | Исследования проведены только на животных |
| Ингибиторы TNF- α (этанерцепт) | <ul style="list-style-type: none"> • Является растворимым аналогом рецептора TNF-α • Ингибирует апоптоз | Уменьшает синтез противовоспалительных цитокинов |
| Гипербарическая оксигенация | <ul style="list-style-type: none"> • Ингибирует NO-синтазу • Снижает активность микроглии и лейкоцитов • Снижает апоптоз • Активирует антиоксидантные ферменты и антиапоптотические гены | <ul style="list-style-type: none"> • Все механизмы действия не установлены • Оптимальное начало терапии 6–12 ч. После 24 ч эффект отсутствует |
| 5. Трофическая терапия | | |
| Эпидермальный фактор роста (EGF) | <ul style="list-style-type: none"> • Стимулируют нейрогенез путем активации эндогенных нервных стволовых клеток • Уменьшают апоптоз • Снижают эксайтотоксичность, блокируя NMDA-рецепторы | <ul style="list-style-type: none"> • Мало исследований на людях • Не установлен полный спектр механизмов действия • Возможный онкогенный эффект |
| Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) | | |
| Нейротрофический фактор (BDNF) | | |
| Основной фактор роста фибробластов (bFGF) | | |
| Эритропоэтин | Нейротрофическое действие. Уменьшение зоны поражения и стимуляция нейрогенеза | Гендерзависимый эффект. Неоднозначные результаты клинических испытаний |
| 6. Регенеративные методы с применением стволовых клеток (СК) | | |
| Нейрональные стволовые клетки (СК; в т.ч. iPSC) | <ul style="list-style-type: none"> • Могут дифференцироваться в нейроны, олигодендроциты и стимулировать ангиогенез • Продуцируют трофические факторы | <ul style="list-style-type: none"> • Внутримозговое введение • Максимальный эффект на 3–7 сутки • Возможность онкогенного эффекта |
| СК костного мозга | | |
| СК пуповины | | |
| СК плаценты | | |
| 7. Модуляторы гомеостаза НАД+ | | |
| Индукторы синтеза и блокаторы метаболизма НАД+ | <ul style="list-style-type: none"> • Нормализуют внутриклеточную сигнализацию, тормозят апоптоз • Стимулируют образование трофических факторов | Экспериментальные работы |
| 8. Модуляторы инфламмасом | | |
| Интерфероны | Уменьшают уровни ИЛ-1 β и ИЛ-18 | <ul style="list-style-type: none"> • Много побочных эффектов • Риск аутоиммунных заболеваний |
| Препараты калия | Блокируют активацию инфламмасом | Эффективные дозы вызывают гиперкалиемию |
| Антагонисты рецептора ИЛ-1 (анакинра, рилонацепт) | Уменьшают нейровоспаление | Разрешены для лечения аутоиммунных заболеваний в США |
| Антитела к ИЛ-1 β (канакинумаб) | | |
| Гипогликемические препараты (глибенкламид) | <ul style="list-style-type: none"> • Действуют на кальциевый обмен • Снижают активность каспаз • Тормозят апоптоз | <ul style="list-style-type: none"> • Дозозависимый эффект • Трудно поддерживать необходимую концентрацию |

| Средства адресного воздействия | Положительный эффект | Ограничение |
|--|---|---|
| 9. Модуляторы коннексинов, паннексинов | | |
| Блокаторы каналов (карбенексолол, мефлохин, флуфенамовая кислота, гептанол, октанол) | <ul style="list-style-type: none"> • Прерывание распространения проапоптотических сигнальных молекул, а также «кальциевой волны повреждения» • Уменьшают воспаление | <ul style="list-style-type: none"> • Отсутствует избирательное действие • Системные побочные эффекты • Исследования проведены на животных |
| Противомалярийные средства (артесунат, артемизинин) | | |
| Типоурикемические средства (пробенацид) | | |
| 10. Модуляторы пуринергического сигналинга | | |
| Блокаторы пуринергических рецепторов | Уменьшают нейровоспаление и апоптоз | Системное действие и дозозависимый эффект |
| Модуляторы коннексинов и паннексинов | См. выше | |
| 11. Модуляторы внутриклеточных сигнальных путей | | |
| Антисмысловые олигонуклеотиды анти-Rac1 (NSC23766) | Ингибирует активацию Rac1 | Является антагонистом M2 мускариновых рецепторов (тахикардия, повышение систолического давления, бронхоспазм) |
| XAV939 | Ингибирует фермент танкиразу (Tankyrase), участвующую в Wnt-сигналинге | В настоящее время изучается на животных |
| Анти-LRP6 антитела | Блокируют Wnt-сигналинг | Исследования проведены только на животных |
| Антагонист Wnt (Sclerostin) | Подавляет Wnt-сигналинг | <ul style="list-style-type: none"> • Механизм до конца не ясен • Изучено действие только на костную ткань |
| Дефероксамин | Подавляет Wnt-сигналинг, опосредованно через свободные радикалы | Низкая эффективность при отсроченном назначении |
| Ингибитор HIF-1 (2-метоксиэстрадиол) | Уменьшение апоптоза | Неоднозначные результаты. Эффект наблюдается при немедленном применении после гипоксии-ишемии Не согласуется с действием активаторов HIF-1 |
| Активатор HIF-1 (Dimethylxaloylglycine) | Индуктор HIF-1, CD73 и A2BAR одновременно, что приводит к нейропротективному эффекту | Неоднозначные результаты. Эффект наблюдается при немедленном применении <ul style="list-style-type: none"> • После гипоксии-ишемии • Не согласуется с действием ингибиторов HIF-1 |

REFERENCES

- Gulamova S.R., Alieva S.A., Nagieva Kh.M., Bagirova A.G. *Svit meditsini ta biologii – Light of medicine and biology*. 2011; 7(3): 55–58.
- Kapranova E.I., Belousova N.A. *Doktor.ru – Doktor.ru*. 2012; 9: 40–43.
- Yanushanets N.Yu. *Ros. vestn. perinatologii i pediatrii – Russian bulletin of perinatology and pediatrics*. 2006; 51(4): 53–55.
- Pal'chik A.B., Shabalov N.P. *Gipoksicheski-ishemicheskaya entsefalopatiya novorozhdennykh: Rukovodstvo dlya vrachei* [Hypoxic-ischemic Encephalopathy of Newborns: Guideline for Doctors]. St.-Petersburg, Piter, 2006. 224 p.
- Mikhalev E.V., Krivonogova T.S., Tropova T.E., Bybchenko E.G., Zhelev V.A. *Mat' i ditya v Kuzbasse – Mother and child in Kuzbass*. 2011; 4: 40–42.
- Михалев Е.В., Кривоногова Т.С., Тропова Т.Е., Быбченко Е.Г., Желев В.А. Перинатальные поражения центральной нервной системы в структуре заболеваемости новорожденных детей г. Томска. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2011; 4: 40–42.
- Platt M.J., Cans C., Johnson A., Surman G., Topp M., Torrioli M.G., Krageloh-Mann I. Trends in cerebral palsy among infants of very low birthweight (< 1500 g) or born prematurely (< 32 weeks) in 16 European centers: A database study. *Lancet*. 2007; 369: 43–50.
- Baburamani A.A., Ek C.J., Walker D.W., Castillo-Melendez M. Vulnerability of the developing brain to hypoxic-ischemic damage: contribution of the cerebral vasculature to injury and repair? *Front. Physiol.* 2012; 3: 424.
- Vlasyuk V.V. *Rodovaya travma i perinatal'nye narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya* [Birth Injury and Perinatal Disorders of Cerebral Blood Flow]. St.-Petersburg, Nestor-Istoriya, 2009. 252 p.
- Barashnev Yu.I., Rozanov A.V., Panov V.O., Volobuev A.I. *Ros. vestn. perinatologii i pediatrii – Russian bulletin of perinatology and pediatrics*. 2006; 51(4): 41–46.
- Volpe J.J. The encephalopathy of prematurity – brain injury and impaired brain development inextricably intertwined. *Semin. Pediatr. Neurol.* 2009; 16 (4): 167–178.
- Medvedev M.I., Degtyareva M.G., Gorbunov A.V., Grebennikova O.V., Dulenkov A.B., Voronov V.V. *Pediatriya – Pediatrics*. 2011; 90(1): 66–70.
- Barashnev Yu.I. *Perinatal'naya nevrologiya* [Perinatal Neurology]. Moscow, Triada-X. 2011. 670 p.
- Salmina A.B., Fursov A.A., Mikhutkina S.V., Morgun A.V., Zykova L.D., Musaeva O.F., Fursov M.A., Laletin D.I., Yudin G.V., Trufanova L.V., Shnaider N.A. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie – Siberian medical review*. 2006; 41(4): 22–27.
- Barkovich A.J. Magnetic resonance techniques in the assessment of myelin and myelination. *J. Inherit. Metab. Dis*. 2005; 28: 311–343.
- Ballabh P., Braun A., Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol. Dis*. 2004; 16: 1–13.
- Kuvacheva N.V., Salmina A.B., Komleva Yu.K., Malinovskaya N.A., Morgun A.V., Pozhilenkova E.A., Zamai G.S., Yauzina N.A., Petrova M.M. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii im. C.C. Korsakova – S.S. Korsakov Journal of neurology and psychiatry*. 2013; 113(4): 80–85.
- Fan X., Kavelaars A., Heijnen C.J., Groenendaal F., van Bel F. Pharmacological neuroprotection after perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Curr. Neuropharmacol*. 2010; 8 (4): 324–334.
- Iang I., Rozenberg G.A. *Stroke. Rossiiskoe izdanie – Stroke. Russian publication*. 2012; 1: 91–96.

19. Salmina A.B., Okuneva O.S., Taranushenko T.E., Fursov A.A., Prokopenko S.V., Mikhutkina S.V., Malinovskaya N.A., Tagaeva G.A. *Annaly klinicheskoi i eksperimental'noi nevrologii – Annals of clinical and experimental neurology*. 2008; 2(3): 44–51
20. Liang J., Takeuchi H., Doi Y., Kawanokuchi J., Sonobe Y., Jin S., Yawata I., Li H., Yasuoka S., Mizuno T., Suzumura A. Excitatory amino acid transporter expression by astrocytes is neuroprotective against microglial excitotoxicity. *Brain Res*. 2008; 1210: 11–19.
21. Uwechue N.M., Marx M.C., Chevy Q., Billups B. Activation of glutamate transport evokes rapid glutamine release from perisynaptic astrocytes. *J Physiol*. 2012; 590 (Pt. 10): 2317–2331.
22. Weillinger N.L., Tang P.L., Thompson R.J. *J. Neurosci*. 2012; 32 (36): 12579–12588.
23. Giaume C., Koukoff A., Roux L., Holcman D., Rouach N. *Nat. Rev. Neurosci*. 2010; 11 (2): 87–99.
24. Iglesias R.M., Spray D.C. *Neurochem. Res*. 2012; 37 (6): 1355–1363.
25. Heinrich A., Ando R.D., Turi G., Rozsa B., Sperlagh B. *Brit. J. Pharmacol*. 2012; 167 (5): 1003–1020.
26. Minkiewicz J., de Rivero Vaccari J.P., Keane R.W. *Glia*. 2013; 61 (7): 1113–1121.
27. Bennett M.V., Garre J.M., Orellana J.A., Bukauskas F.F., Nedergaard M., Saez J.C. *Brain Res*. 2012; 1487: 3–15.
28. Cone A.C., Ambrosi C., Scemes E., Martone M.E., Sosinsky G.E. *Front. Pharmacol*. 2013; 4: 6.
29. Franke H., Gunther A., Grosche J., Schmidt R., Rossner S., Reinhardt R., Faber-Zuschratter H., Schneider D., Illes P. *J. Neuro-pathol. Exp. Neurol*. 2004; 63 (7): 686–699.
30. Lai P.C., Huang Y.T., Wu C.C., Lai C.J., Wang P.J., Chiu T.H. Ceftriaxone attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *J. Biomed. Sci*. 2011; 18 (1): 69.
31. Leibowitz A., Boyko M., Shapira Y., Zlotnik A. Blood glutamate scavenging: insight into neuroprotection. *Int. J. Mol. Sci*. 2012; 13 (8): 10041–10066.
32. Distefano G., Pratico A.D. Actualities on molecular pathogenesis and repairing processes of cerebral damage in perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Ital. J. Pediatr*. 2010; 36: 63.
33. Papazisis G., Pourzitaki C., Sardeli C., Lallas A., Amaniti E., Kouvelas D. Deferoxamine decreases the excitatory amino acid levels and improves the histological outcome in the hippocampus of neonatal rats after hypoxia-ischemia. *Pharmacol. Res*. 2008; 57 (1): 73–78.
34. Cimino M., Balduini W., Carloni S., Gelosa P., Guerrini U., Tremoli E., Sironi L. Neuroprotective effect of simvastatin in stroke: a comparison between adult and neonatal rat models of cerebral ischemia. *Neurotoxicology*. 2005; 26 (5): 929–933.
35. Fabian R.H., Perez-Polo J.R., Kent T.A. Perivascular nitric oxide and superoxide in neonatal cerebral hypoxia-ischemia. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol*. 2008; 295 (4): 1809–1814.
36. Loginova I.G., Afonin A.A., Drukker N.A. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; 2: 21–29.
37. Chekeni F.B., Elliott M.R., Sandilos J.K., Walk S.F., Kinchen J.M., Lazarowski E.R., Armstrong A.J., Penuela S., Laird D.W., Salvesen G.S., Isakson B.E., Bayliss D.A., Ravichandran K.S. Pannexin 1 channels mediate 'find-me' signal release and membrane permeability during apoptosis. *Nature*. 2010; 14 (467): 863–867.
38. Bargiotas P., Krenz A., Monyer H., Schwabinger M. *Channels (Austin)*. 2012; 6 (6): 453–456.
39. Leonardo C.C., Pennypacker K.R. Neuroinflammation and MMPs: potential therapeutic targets in neonatal hypoxic-ischemic injury. *J. Neuroinflamm*. 2009; 6: 13.
40. Morgun A.V., Ovcharenko N.V., Taranushenko T.E., Ustinova S.I., Okuneva O.S., Antonova S.K., Gilyazova D.F., Uspenskaya O.A., Salmina A.B. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie – Siberian medical review*. 2013; 3: 3–10. Jellega R.K., Lima Passos V., Zwanenburg A., Ophelders D.R., De Munter S., Vanderlocht J., Germeraad W.T., Kuypers E., Collins J.J., Cleutjens J.P., Jennekens W., Gavilanes A.W., Seehase M., Vles H.J., Steinbusch H., Andriessen P., Wolfs T.G., Kramer B.W. Cerebral inflammation and mobilization of the peripheral immune system following global hypoxia-ischemia in preterm sheep. *J. Neuroinflammation*. 2013; 10: 13.
41. Winerdal M., Winerdal M.E., Kinn J., Urmaliya V., Winqvist O., Aden U. Long lasting local and systemic inflammation after cerebral hypoxic ischemia in newborn mice. *PLoS One*. 2012; 7 (5): 36422.
42. Wanqiu Chen, Robert P. Ostrowski, Andre Obenaus, and John H. Zhang Prodeath or prosurvival: two facets of hypoxia inducible factor-1 in perinatal brain injury. *Exp Neurol*. 2009; 216 (1): 7–15.
43. Салмина А.Б., Окунева О.С., Малиновская Н.А., Таранушенко Т.Е., Моргун А.В., Манторова Н.С., Михуткина С.В. НАД⁺-зависимые механизмы нарушения жизнеспособности клеток головного мозга в остром периоде гипоксически-ишемического перинатального поражения. *Нейрохимия*. 2008; 25 (3): 247–254.
44. Salmina A.B., Okuneva O.S., Malinovskaya N.A., Taranushenko T.E., Morgun A.V., Mantorova N.S., Mikhutkina S.V. *Neirokhimiya – Neurochemistry*. 2008; 25(3): 247–254.
45. Salmina A.B., Okuneva O.S., Malinovskaya N.A., Zykova L.D., Fursov A.A., Morgun A.V., Mikhutkina S.V., Taranushenko T.E. *Neirokhimiya – Neurochemistry*. 2009; 26(3): 237–244.
46. Golosnaya G.S., Petrukhin A.S., Krasil'shchikova T.M. *Pediatrics – Pediatr*. 2010; 89(1): 20–25.
47. Al Haj Zen A., Madeddu P. Notch signalling in ischaemia-induced angiogenesis. *Biochem. Soc. Trans*. 2009; 37 (Pt. 6): 1221–1227.
48. Shimada I.S., Borders A., Aronsham A., Spees J.L. Proliferating reactive astrocytes are regulated by Notch-1 in the peri-infarct area after stroke. *Stroke*. 2011; 42 (11): 3231–3237.
49. del Zoppo G.J. Relationship of neurovascular elements to neuron injury during ischemia. *Cerebrovasc. Dis*. 2009; 27 (Suppl. 1): 65–76.
50. Lakhan S.E., Kirchgessner A., Tepper D., Leonard A. Matrix metalloproteinases and blood-brain barrier disruption in acute ischemic stroke. *Front. Neurol*. 2013; 4: 32.
51. Scholler K., Trinkl A., Klopotoski M., Thal S. C., Plesnila N., Trabold R., Hamann G.F., Schmid-Elsaesser R., Zausinger S. Characterization of microvascular basal lamina damage and blood-brain barrier dysfunction following subarachnoid hemorrhage in rats. *Brain Res*. 2007; 1142: 237–246.
52. Sen E., Basu A., Willing L.B., Uliasz T.F., Myrkalov J.L., Vannucci S.J., Hewett S.J., Levison S.W. Pre-conditioning induces the precocious differentiation of neonatal astrocytes to enhance their neuroprotective properties. *ASN Neuro*. 2011; 3 (3): 62.
53. Моргун А.В., Малиновская Н.А., Окунева О.С., Устинова С.И., Карпова Л.Н., Салмина А.Б., Пожиленкова Е.А., Лалетин Д.И., Фролова О.В., Кутишева И.А. Экспрессия Р-гликопротеина в клетках нейроваскулярной единицы при перинатальной гипоксии-ишемии мозга в остром периоде. Сборник тезисов докладов X Всероссийской научно-технической конференции «Приоритетные направления развития науки и технологий». Тула: «Иновационные технологии». 2011. С. 115–116.
54. Morgun A.V., Malinovskaya N.A., Okuneva O.S., Ustinova S.I., Karpova L.N., Salmina A.B., Pozhilenkova E.A., Laletin D.I., Frolova O.V., Kutishcheva I.A. *Ekspressiya P-glikoproteina v kletkakh neirovaskulyarnoi edinitiy pri perinatal'noi gipoksiy-iшемии mozga v ostrom periode. Sbornik tezisov dokladov X Vserossiiskoi nauchno-tekhnicheskoi konferentsii «Prioritetnye napravleniya razvitiya nauki i tekhnologii»* [Expression of P-glycoprotein in Cells of Neurovascular Unit in Perinatal Cerebral Hypoxia-ischemia in Acute Period. Collection of Abstracts of X Russian Scientific-Technical Conference "Priority Directions of Science and Technology Development"]. Tula, "Innovatsionnye tekhnologii", 2011. pp. 115–116
55. Салмина А.Б., Малиновская Н.А., Окунева О.С., Таранушенко Т.Е., Фурсов А.А., Михуткина С.В., Моргун А.В., Прокопенко С.В., Зыкова Л.Д. Перинатальное гипоксически-ише-

- мическое поражение центральной нервной системы вызывает изменение экспрессии коннексина 43, CD38 и активности АДФ-рибозилликазы в клетках головного мозга. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2008; 146 (12): 641–645.
56. Salmina A.B., Malinovskaya N.A., Okuneva O.S., Taranushenko T.E., Fursov A.A., Mikhutkina S.V., Morgun A.V., Prokopenko S.V., Zykova L.D. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny – Bulletin of experimental biology and medicine*. 2008; 146(12): 641–645.
 57. Cowan D.B., Jones M., Garcia L.M., Noria S., del Nido P.J., McGowan F.X. Jr. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23 (10): 1754–1760.
 58. Kondo R.P., Wang S.Y., John S.A., Weiss J.N., Goldhaber J.I. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2000; 32 (10): 1859–1872.
 59. Davidson J.O., Green C.R., Nicholson L.F., Bennet L., Gunn A.J. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13 (5): 6303–6319.
 60. Zehendner C.M., Librizzi L., de Curtis M., Kuhlmann C.R., Luhmann H.J. Caspase-3 contributes to ZO-1 and Cl-5 tight-junction disruption in rapid anoxic neurovascular unit damage. *PLoS One*. 2011; 6 (2): e16760.
 61. Chen F., Ohashi N., Li W., Eckman C., Nguyen J.H. Disruption of occludin and claudin-2 in brain endothelial cells in vitro and in brains of mice with acute liver failure. *Hepatology*. 2009; 50: 1914–1923.
 62. Won S.M., Lee J.H., Park U.J., Gwag J., Gwag B.J., Lee Y.B. Iron mediates endothelial cell damage and blood-brain barrier opening in the hippocampus after transient forebrain ischemia in rats. *Exp. Mol. Med.* 2011; 43 (2): 121–128.
 63. Orellana J.A., von Bernhardi R., Giaume C., Saez J.C. Glial hemichannels and their involvement in aging and neurodegenerative diseases. *Rev. Neurosci.* 2012; 23 (2): 163–177.
 64. Sawada N., Kim H.H., Moskowitz M.A., Liao J.K. Rac1 is a critical mediator of endothelium-derived neurotrophic activity. *Sci. Signal.* 2009 Mar 10; 2 (61). Doi: 10.1126/scisignal.2000162.
 65. Raz L., Zhang Q.G., Zhou C.F., Han D., Gulati P., Yang L.C., Yang F., Wang R.M., Brann D.W. Role of Rac1 GTPase in NADPH oxidase activation and cognitive impairment following cerebral ischemia in the rat. *PLoS One*. 2010 Sep 7; 5 (9): e12606.
 66. Aslam M., Schluter K.D., Rohrbach S., Rafiq A., Nazli S., Piper H.M., Noll T., Schulz R., Gunduz D. Hypoxia-reoxygenation-induced endothelial barrier failure: role of RhoA, Rac1 and myosin light chain kinase. *J Physiol.* 2013; 591 (Pt. 2): 461–73.
 67. Liu S., Agalliu D., Yu C., Fisher M. The role of pericytes in blood-brain barrier function and stroke. *Curr. Pharm. Des.* 2012; 18 (25): 3653–3662.
 68. Al Ahmad A., Gassmann M., Ogunshola O.O. Involvement of oxidative stress in hypoxia-induced blood-brain barrier breakdown. *Microvasc. Res.* 2012; 84 (2): 222–225.
 69. Zozulya A., Weidenfeller C., Galla H.J. Pericyte-endothelial cell interaction increases MMP-9 secretion at the blood-brain barrier in vitro. *Brain Res.* 2008; 1189: 1–11.
 70. Ishitsuka K., Ago T., Arimura K., Nakamura K., Tokami H., Makihara N., Kuroda J., Kamouchi M., Kitazono T. Neurotrophin production in brain pericytes during hypoxia: a role of pericytes for neuroprotection. *Microvasc. Res.* 2012; 83 (3): 352–359.

FOR CORRESPONDENCE

Morgun Andrei Vasil'evich, MD, assistant of Pediatric Department of Krasnoyarsk State Medical University.
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 243-39-52; **e-mail:** 441682@mail.ru
Kuvacheva Natal'ya Valer'evna, MD, associate professor of the Department of Biological Chemistry with the Course of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry of Krasnoyarsk State Medical University.
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 228-07-69; **e-mail:** natalya.kuvacheva@gmail.com
Taranushenko Tat'yana Evgen'evna, PhD, professor, Head of Pediatric Department of Krasnoyarsk State Medical University.
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 243-39-52; **e-mail:** tetar@mail.ru
Khilazheva Elena Dmitrievna, assistant of the Department of Biological Chemistry with the Course of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry of Krasnoyarsk State Medical University
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 228-07-69; **e-mail:** elena.hilazheva@mail.ru
Malinovskaya Nataliya Aleksandrovna, MD, research scientist of Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry of Krasnoyarsk State Medical University.
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 228-07-69; **e-mail:** konsuelo81@mail.ru
Gorina Yana Valer'evna, MD, senior lecturer of the Department of Biological Chemistry with the Course of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry of Krasnoyarsk State Medical University.
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 228-07-69; **e-mail:** yana_20@bk.ru
Pozhilenkova Elena Anatol'evna, MD, associate professor of the Department of Biological Chemistry with the Course of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry of Krasnoyarsk State Medical University.
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 228-07-69; **e-mail:** pozhilenkova@yandex.ru
Frolova Olga Vasilyevna, research scientist of Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry of Krasnoyarsk State Medical University.
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 228-07-69; **e-mail:** frolova_olga86@mail.ru
Salmina Alla Borisovna, PhD, professor, Head of the Department of Biological Chemistry with the Course of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry of Krasnoyarsk State Medical University.
Address: 1, P. Zheleznyak Street, Krasnoyarsk, RF, 660022; **tel.:** +7 (391) 228-07-69; **e-mail:** allasalmina@mail.ru