

Е.В. Шлякто, Е.Р. Баранцевич, Н.С. Щербак, М.М. Галагудза

Институт экспериментальной медицины Федерального центра сердца, крови и эндокринологии  
им. В.А. Алмазова Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург  
Институт сердечно-сосудистых заболеваний Санкт-Петербургского государственного медицинского университета  
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

## Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга (Обзор литературы. Часть 2)

*Во второй части обзора подробно описаны основные аспекты защитного действия preconditionирования головного мозга: подавление программируемой клеточной гибели, ослабление феномена эксайтотоксичности, активация эндогенных антиоксидантных систем, противовоспалительный эффект, модуляция функции глиальных клеток, изменения регионарного кровотока и сосудистой реактивности. Кроме того, проанализированы сведения о влиянии preconditionирования головного мозга на нейрогенез, состояние гемато-энцефалического барьера, метаболизм и ионный гомеостаз нейронов. В обзоре уделено внимание роли микроРНК в механизмах ишемической толерантности головного мозга. Более глубокое понимание молекулярных механизмов повышения устойчивости головного мозга к ишемическому и реперфузионно-повреждению способствует приложению данного феномена в клинической практике.*

**Ключевые слова:** головной мозг, ишемия, реперфузия, preconditionирование, ишемическая толерантность.

20

### Антиапоптотическое действие preconditionирования

Ишемия и в особенности реперфузия запускают процесс программируемой гибели нейронов — апоптоз, механизмы которого на сегодняшний день достаточно хорошо изучены. При preconditionировании головного мозга (ПреК ГМ) запускаются многочисленные процессы, препятствующие апоптозу, которые могут быть связаны с активацией рецепторов, внутриклеточных киназных каскадов, транскрипционных факторов, определенных митохондриальных белков и ядерных эффекторов. Более подробная характеристика молекулярных механизмов, участвующих как в запуске апоптоза, так и в его предотвращении в процессе наступления ишемической толерантности, представлена в табл. 1. Известно, в частности, что индуцируемый ПреК транскрипционный фактор — цАМФ-зависимый связывающий белок (CREB) —

способствует увеличению интенсивности синтеза антиапоптотических белков BCL2 и BCLX<sub>L</sub>. Кроме того, под действием ПреК происходит стабилизация митохондриального мембранного потенциала, снижается высвобождение митохондриального цитохрома C, а также уменьшается интенсивность синтеза каспазы 3 и снижается активность ядерного белка p53 [1]. На модели четырехсосудистой ишемии ГМ у крыс было показано, что механизмы предотвращения апоптоза нейронов CA1-зоны гиппокампа под действием ишемического ПреК включают активацию фосфатидилинозитол-3ОН-киназы (PI3K) и протеинкиназы B с последующей блокировкой сигнальных путей апоптоза [2]. В частности, ишемическое ПреК предотвращало транслокацию в митохондрии проапоптотического фактора BAX, его связывание с BCL-X<sub>L</sub> и расщепление последнего с образованием проапоптотического фрагмента ΔN-Bcl-X<sub>L</sub>. Помимо этого,

E.V. Shlyakhto, E.R. Barantsevitch, N.S. Shcherbak, M.M. Galagudza

Saint-Petersburg State Medical Pavlov's University, Saint-Petersburg  
Saint-Petersburg, Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre

### Molecular mechanisms of development of cerebral tolerance to ischemia (Review. Part 2)

*In the 2<sup>nd</sup> part the authors describe in details the main aspects of protective effect of preconditioning of the brain: inhibition of programmed cell death, weakening of phenomenon of excitotoxicity, activation of endogenous antioxidant systems, anti-inflammatory effects, modulation of glial cell function, changes in regional blood flow and vascular reactivity. In addition, data analysis on the impact of preconditioning on brain neurogenesis, the state of the blood-brain barrier, ion homeostasis and metabolism of neurons is presented. Review emphasizes the role of microRNAs in mechanisms of ischemic tolerance of brain. Profound understanding of molecular mechanisms of increased tolerance of brain to ischemic and reperfusion injury requires the implementation of this phenomenon in clinical practice.*

**Key words:** brain, ischemia, reperfusion, preconditioning, ischemic tolerance.

Таблица 1. Молекулярные медиаторы программируемой клеточной гибели и медиаторы сохранения жизнеспособности клетки по J.M. Gidday, 2006 [1]

Клеточная локализация или основная функция	Медиаторы программируемой клеточной гибели	Медиаторы сохранения жизнеспособности клетки
Мембранные рецепторы	Рецепторы фактора некроза опухолей $\alpha$ (TNF $\alpha$ ); Fas-лиганд (FasL); «рецепторы смерти» (DR3/4/5); адапторные белки (TRADD, FADD)	Аденозиновые A1-рецепторы; метаботропный рецептор глутамата; пуринергические рецепторы P2Y2; дофаминовые D2 рецепторы; рецепторы гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF); рецепторы, активируемые пероксисомальным пролифератором (PPAR $\alpha/\beta/\delta$ ); рецепторы нейротрофина; рецепторы фактора некроза опухолей $\alpha$ (TNF $\alpha$ )
Внутриклеточная передача сигнала	Каспазы; киназа, регулирующая апоптотический сигнал-1 (ASK1); киназа гликогенсинтазы 3 $\beta$ (GSK3 $\beta$ ); нейрональная NO-синтаза (nNOS)	Raf-киназа; киназа митоген-активируемой протеинкиназы (MEK), киназа, регулируемая внеклеточными сигналами (ERK), Янус киназа-2 (JAK2), киназа смешанной линии-3 (MLK3), протеинкиназа C эпсилон (PKC $\epsilon$ ), фосфорилированный фактор Akt (pAkt); фосфатидилинозитол-3-OH киназа (PI3K); трансдуктор сигнала и активатор транскрипции 5 (STAT5); керамиды; эндотелиальная NO-синтаза (eNOS)
Транскрипционные факторы	Ядерный транскрипционный фактор $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B); c-Jun N-терминальная киназа (JNK); фактор, индуцируемый гипоксией (HIF); семейство транскрипционных факторов FOXO	<b>цАМФ-зависимый связывающий белок (CREB)</b> ; специфичный белок-1 (SP1); фактор, индуцируемый гипоксией (HIF); ядерный транскрипционный фактор $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B); белок активатор-1 (AP1); фактор ответа сыворотки (SRF); семейство транскрипционных факторов FOXO; фактор 2, активирующий миоциты (MEF2)
Митохондриальные эффекторы	Промоторы и индукторы апоптоза (BAX, BAD, BID, BIM); потеря митохондриального мембранного потенциала; высвобождение цитохрома C, митохондриальных активаторов каспаз SMAC/DIABLO и фактора, индуцирующего апоптоз (AIF); продукция активных форм кислорода (АФК)	Ингибиторы апоптоза (BCL2; BCL-XL; BCL-W); стабилизация митохондриальной поры, регулирующей проницаемость; ингибирование высвобождения цитохрома C и митохондриальных активаторов каспаз SMAC/DIABLO; ингибирование транслокации фактора, индуцирующего апоптоз (AIF); выработка тиоредоксина; разобщающий белок 2
Ядерные эффекторы	Поли(АДФ-рибоза)-полимераза (PARP); антионкоген p53; ген c-jun; эндонуклеазы; проапоптотические гены	Ингибиторы белков апоптоза (IAPs); ферменты репарации ДНК; «гены выживания»
Разные		Снижение активации каспаз; стабилизация эндоплазматического ретикулума (кислород-регулируемый белок-150 (ORP150)); увеличение трофических факторов (фактора роста нервов (NGF), мозгового нейротрофического фактора (BDNF), инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1), основного фактора роста фибробластов (bFGF)); синтез белков теплового шока и шаперонов; синтез сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), эритропоэтина и аденозина

ПреК предотвращало формирование каналов в наружной мембране митохондрий и, следовательно, сопровождалось менее интенсивным выходом цитохрома C из межмембранного пространства митохондрий. Как следствие, в мозге животных, подвергнутых ПреК, отмечалась меньшая активность каспаз и меньшая интенсивность апоптоза [2].

Сохранению жизнеспособности нейронов в условиях ишемии—реперфузии могут способствовать такие эндогенные белки, как связанный с эндоплазматическим ретикулумом шаперон ORP150 (кислород-регулируемый белок-150), фактор ответа сыворотки (SRF) и аливин-1 [1]. Антиапоптотический эффект ПреК опосредован увеличением интенсивности синтеза ряда

факторов роста и трофогенов, в частности фактора роста нервов, мозгового нейротрофического фактора (BDNF), инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1), основного фактора роста фибробластов (bFGF) и белков-нейрегулинов [1, 3, 4].

#### Механизмы ослабления феномена эксайтотоксичности при ишемической толерантности

Феномен эксайтотоксичности занимает ключевое положение среди ранних механизмов необратимого ишемического повреждения нейронов ЦНС [5]. Сущность происходящих молекулярных событий,

лежащих в основе эксайтотоксичности, такова: ишемическая деполяризация нейронов вызывает интенсивное высвобождение глутамата из глутаматэргических терминалей в синаптическую щель. Глутамат активирует ряд постсинаптических рецепторов: N-метил-D-аспартат (NMDA)-рецепторы,  $\alpha$ -аминометилизосазолпропионатные (AMPA) рецепторы и каинатные рецепторы [5]. При этом активация NMDA-рецепторов приводит к открытию кальциевых каналов постсинаптической мембраны, а активация AMPA и каинатных рецепторов — к открытию натриевых каналов. Повышение концентрации ионов кальция в цитоплазме постсинаптических нейронов вызывает активацию кальций-чувствительных протеаз (кальпаинов) и фосфолипаз, а также стимулирует образование повреждающих концентраций АФК. Резкое повышение концентрации ионов натрия в цитоплазме нейронов может провоцировать внутриклеточный отек. В совокупности указанные механизмы приводят к некрозу постсинаптических нейронов, что вносит существенный вклад в формирование зоны инфаркта [6]. Показано, что многие индукторы ишемической толерантности ГМ вызывают умеренную стимуляцию NMDA-рецепторов глутаматом, что в дальнейшем приводит к адаптации потенциал-зависимых кальциевых каналов и уменьшению кальциевой перегрузки во время тестовой ишемии [7]. Кроме того, введение антагонистов NMDA-рецепторов блокирует формирование ишемической толерантности нейронов, вызванной временным снижением концентрации глюкозы и напряжения кислорода [8]. Нейропротективный эффект активации NMDA-рецепторов физиологическими концентрациями глутамата может быть опосредован и высвобождением мозгового нейротрофического фактора (МНТФ), активирующего, в свою очередь, тирозинкиназный рецептор. Результатом активации тирозинкиназы является фосфорилирование транскрипционного фактора  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) и его транслокация в ядро клетки. Как известно, NF $\kappa$ B стимулирует экспрессию ряда цитопротективных белков, участвующих в формировании поздней ишемической толерантности ГМ [9].

Ослабление проявлений эксайтотоксичности при развитии ишемической толерантности может быть связано и со стимуляцией эндогенных механизмов, противостоящих последствиям избыточной активации NMDA-рецепторов. Так, установлено, что ишемическое ПреК ГМ приводит к усиленному высвобождению из нейронов  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК), которая, воздействуя на ГАМК-А и ГАМК-В-рецепторы, соответственно, препятствует поступлению ионов кальция в постсинаптический нейрон и тормозит высвобождение глутамата из пресинаптических терминалей [10].

### Ишемическая толерантность и эндогенные антиоксидантные системы

Одним из факторов, участвующих в формировании ишемического и, особенно, реперфузионного повреждения ГМ, являются активные формы кислорода (АФК). Восстановление кровотока к ишемизированным отделам ГМ, как правило, сопровождается выраженной постишемической гиперемией и, следовательно, массивным поступлением молекулярного кислорода в ткань ГМ. Неполное восстановление молекулярного кислорода приводит к образованию супероксиданион-радикала ( $O_2^-$ ), а также других АФК, таких как перекись водорода и гидроксил-радикал ( $\cdot$ ОН). Образующиеся АФК, будучи высокореак-

ционноспособными соединениями, вступают во взаимодействие с различными биомолекулами, включая липиды мембран, белки и нуклеиновые кислоты, что приводит к нарушению их структуры и функции.

Таким образом, логично предполагать, что позднее ПреК ГМ, наряду с усилением экспрессии многих цитопротективных белков, способствует увеличению интенсивности синтеза таких эндогенных антиоксидантов, как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатионпероксидаза. В то же время усиление синтеза этих ферментативных антиоксидантов было показано при использовании только определенных ПреК-стимулов. Например, экспрессия СОД в ткани мозга повышается после ПреК с помощью гипоксии [11], ЛПС [12] и оксидативного стресса [13], но не после ишемического ПреК [14] или ПреК корковой распространяющейся депрессии [15]. Более однозначные результаты, воспроизводимые на различных моделях ишемической толерантности, были получены относительно увеличения синтеза и активности белка-антиоксиданта тиоредоксина. Тиоредоксин — небольшой белок, содержащий 2 остатка цистеина, который восстанавливается из окисленной формы ферментом тиоредоксин-редуктазой. В совокупности тиоредоксин и тиоредоксин-редуктаза составляют т.н. тиоредоксиновую систему. Тиоредоксиновая система обнаружена в различных отделах ЦНС, а ее активность играет значительную роль в защите нейронов от оксидативного повреждения.

АФК играют двоякую роль в механизмах ишемическо-реперфузионного повреждения ГМ. Некоторые данные говорят о том, что незначительные концентрации АФК, образующиеся в ходе прекодиционирующей ишемии-реперфузии, необходимы для запуска фазы трансдукции сигнала, а подавление их образования полностью устраняет защитный эффект ишемической толерантности [16].

### Ишемическая толерантность, воспаление и иммунный ответ

Реактивное воспаление при ишемии-реперфузии — сложный патологический процесс с неоднозначным биологическим значением, исходно направленный на ограничение и устранение возникающего очага инфаркта, который, однако, может сопровождаться развитием серьезного вторичного повреждения. Фокальная ишемия ГМ приводит к развитию выраженного воспаления, связанного с массивным высвобождением провоспалительных цитокинов, активацией резидентных фагоцитирующих клеток (микроглии) и привлечением циркулирующих нейтрофилов и моноцитов. В настоящее время доказано, что ишемическая толерантность сопровождается ослаблением проявлений вторичного повреждения, вызванного воспалительными изменениями в ишемизированной ткани мозга. Так, ПреК ГМ ЛПС приводит к уменьшению инфильтрации ткани мозга нейтрофилами, ослаблению активации микроглии и циркулирующих моноцитов [17]. Другими авторами были получены данные о том, что ишемическое и фармакологическое ПреК сопровождается снижением экспрессии ИЛ 1 $\beta$  и ИЛ 6 в постишемическом периоде [18], а также ряда генов, участвующих в воспалении [19].

Основной механизм, посредством которого ПреК ослабляет выраженность негативных последствий постишемического воспалительного ответа, состоит в формировании под действием ПреК-стимула умеренного локального воспаления. Образующиеся в результате умеренного

воспаления регуляторные молекулы подавляют выраженность и ограничивают распространение воспаления, следующего за тестовой ишемией. Ниже представлена более подробная характеристика механизмов модуляции воспалительного ответа при ишемической толерантности.

Согласно имеющимся на сегодняшний день данным, большое значение в запуске воспалительного ответа при ишемии мозга играет ядерный транскрипционный фактор κВ (NFκB), который активируется с участием толл-подобных рецепторов (ТПР). ТПР активируются различными молекулами, высвобождающимися при обратимом повреждении нейронов ПреК-стимулами. Среди эндогенных молекул, высвобождающихся даже при весьма умеренном клеточном стрессе, особенно важная роль в активации ТПР принадлежит белкам теплового шока (БТШ), и в частности БТШ70. Очевидная активация ТПР происходит и при ПреК, вызванном ЛПС, поскольку последний является специфическим лигандом ТПР 4 типа. Активация ТПР при инфекционном процессе обычно приводит к образованию активного гетеродимера NFκB, усиливающего экспрессию многих генов, участвующих в воспалении. При этом предполагается, что незначительная степень активации ТПР и/или особенности их лигандов при ПреК вызывают преобладание экспрессии внеклеточных и внутриклеточных противовоспалительных факторов, что отличает геномный ответ при обычном развернутом воспалении от его «редуцированного» варианта, вызванного ПреК-стимулом. Среди внеклеточных противовоспалительных факторов следует отметить противовоспалительные цитокины (в частности, ИЛ 10), антагонисты цитокиновых рецепторов (например, антагонист рецептора к ИЛ 1) и ложные рецепторы цитокинов (рецептор к ИЛ 1 II типа). Внутриклеточные факторы, снижающие степень выраженности воспаления, являются белками, в той или иной степени нарушающими передачу сигнала от активированных ТПР. Типичными представителями этого семейства, содержание которых повышается после транзиторной регионарной ишемии ГМ, можно считать супрессор цитокиновой сигнализации-3 (SOCS-3) и тристетрапролин [20].

Таким образом, легкая стимуляция ТПР соответствующими лигандами, возникающая после воздействия на организм ПреК-стимула, приводит к усиленной продукции противовоспалительных факторов, сдерживающих негативные проявления выраженного воспаления, сопутствующего тестовой ишемии. Примечательно, что мощный нейропротективный фенотип может быть индуцирован при введении в организм животных антигенов, свойственных структурам ЦНС. Например, повторное пероральное введение мышам бычьего основного белка миелина приводило к формированию значительно меньшего по площади инфаркта мозга, вызванного временной окклюзией СМА через 2 дня после последнего введения антигена [21]. Это явление связано с т.н. органоспецифической иммуносупрессией, формирующейся после попадания в организм соответствующего антигена и приводящей к ослаблению повреждающих последствий воспаления нервной ткани в ишемическом и реперфузионном периоде.

#### Роль микроРНК в прекондиционировании головного мозга

МикроРНК (miR) — это класс эволюционно консервативных генов, которые кодируют один из типов нетранс-

лируемых регуляторных РНК. У человека к настоящему времени описано несколько сотен последовательностей, кодирующих микроРНК. Транскрипты микроРНК формируют шпильчатые структуры, которые процессируются с образованием малых РНК, имеющих длину 21–23 нуклеотида. Такие малые РНК, в свою очередь, могут участвовать в РНК-сайленсинге, главным образом посредством подавления трансляции гомологичных транскриптов. Каждая микроРНК имеет потенциал регулировать экспрессию нескольких сотен мРНК, при этом транскрипт определенного гена может регулироваться несколькими микроРНК [22–24]. Таким образом, микроРНК представляют собой новый уровень координированной регуляции экспрессии генов, дополняющий действие белков-транскрипционных факторов. Следует отметить, что в отличие от регуляторных путей с участием транскрипционных факторов белковой природы регуляция экспрессии генов посредством микроРНК происходит быстрее и обратимо.

Для ГМ мыши и человека было описано семь специфических микроРНК (miR-9, miR-124a, miR-124b, miR-135, miR-153, miR-183 и miR-219) [25]. В последующих исследованиях на мышцах и крысах было установлено, что уровень экспрессии нейроспецифических микроРНК существенно выше, чем в других органах, а также существенно варьирует в зависимости от структуры ГМ [26, 27]. Недавно была определена роль микроРНК при ишемическом повреждении ГМ. Так, на модели фокальной ишемии ГМ у крыс было показано, что микроРНК регулируют экспрессию белков, отвечающих за функцию определенных типов рецепторов, а также участвующих в процессе воспаления и регуляции ионного гомеостаза ГМ [28]. В этом исследовании было обнаружено, что фармакологическое подавление экспрессии miR-145 приводит к повышению активности СОД-2 в ГМ в постишемическом периоде [28].

Известно, что в основе отсроченной ишемической толерантности ГМ, с одной стороны, лежит синтез новых белков, а с другой — подавление экспрессии некоторых генов [29, 30]. Ишемическое ПреК с помощью фокальной ишемии—реперфузии ГМ у мышей вызывало повышение уровня экспрессии двух семейств микроРНК — miR-200 и miR-182 [31]. Таким образом, сомнений в участии микроРНК в формировании ишемической толерантности нет, однако связь уровня экспрессии микроРНК с изменением концентрации и/или функциональной активностью эффекторов ПреК остается не до конца ясной. J. Saugstad была предложена гипотеза, объясняющая механизм участия микроРНК в формировании ишемической толерантности ГМ (рис. 1) [32]. ПреК-стимул приводит к высвобождению мРНК из комплекса с микроРНК и РНК-индуцированным комплексом сайленсинга, в результате чего происходит деградация микроРНК, а на основе вышедшей из-под контроля мРНК происходит синтез белков цитопротективного действия, включая транскрипционные факторы, участвующие в адаптивных реакциях [32].

#### Изменения функции глиальных клеток и ишемическая толерантность

В последние годы происходила переоценка роли нейроглии, в особенности астроцитов, в патогенезе ишемического повреждения нервной ткани. Согласно традиционным представлениям, глиальные клетки играют пассивную роль в процессе ишемии ГМ,

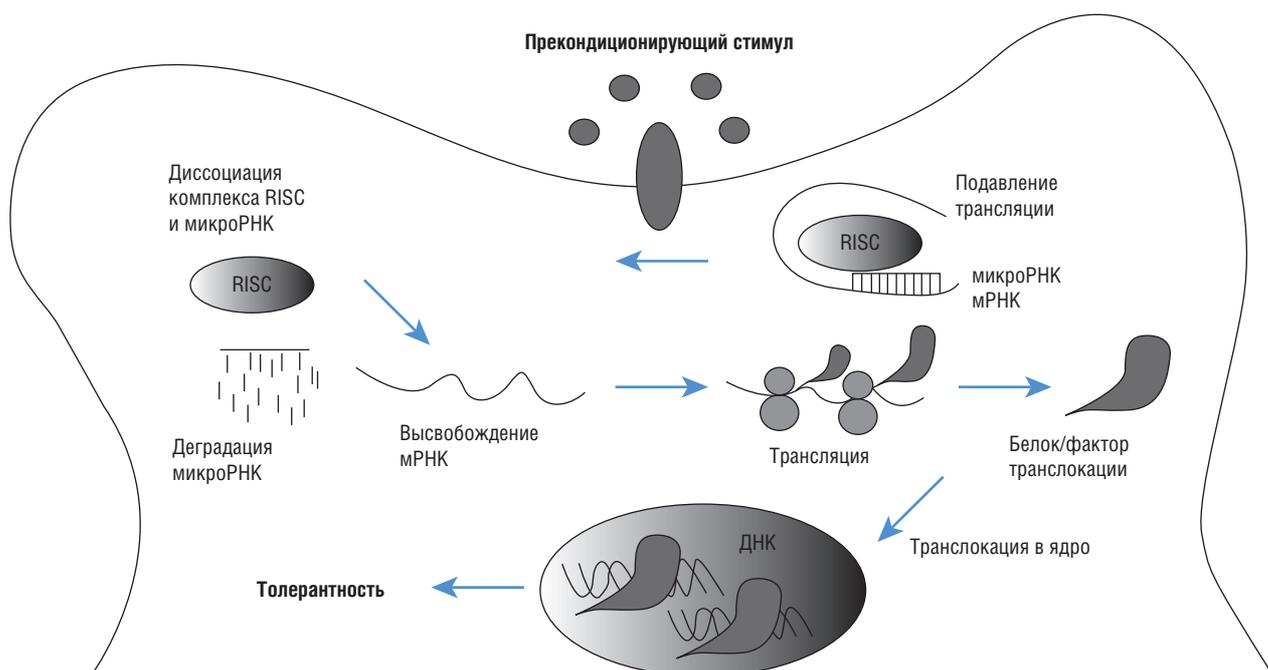


Рис. 1. Роль микроРНК в формировании ишемической толерантности головного мозга по J. Saugstad, 2009 [32].

а основная доля повреждения приходится на высокочувствительные к гипоксии нейроны. Однако новые данные свидетельствуют о том, что как в норме, так и в процессе развертывания ишемического каскада нейроны и астроциты связаны тесными функциональными взаимоотношениями, играющими важную патогенетическую роль в развитии инсульта [33]. Основными медиаторами, обеспечивающими передачу сигнала между нейронами и астроцитами, являются глутамат и АТФ/аденозин. В некоторых источниках эти вещества называют глиотрансмиттерами.

Астроциты оказывают множественные нейропротективные эффекты в результате субстратного обеспечения нейронов, секвестрации избыточного количества глутамата из синаптической щели через транспортеры возбуждающих аминокислот (ЕААТ-1, 2), а также высвобождения МНТФ и других трофогенов. Кроме того, астроциты косвенно участвуют в регуляции мозгового кровотока за счет синтеза простагландинов, оказывающих сосудорасширяющий эффект. Эффекты ПреК ГМ на функциональное состояние астроцитов изучены недостаточно. Известно, что ишемическое и гипоксическое ПреК стимулируют синтез и секрецию астроцитами ряда нейропротективных белков, в частности сосудистого эндотелиального фактора роста, адреномедулина, эритропоэтина, гемоксигеназы-1, МНТФ, а также экспрессию ЕААТ-2 [34].

Клетки микроглии имеют макрофагальное происхождение и подвергаются активации в процессе ишемического повреждения ГМ [35]. Активация микроглии приводит к усилению ее фагоцитарной активности и образованию высоких концентраций цито- и хемокинов, провоцирующих наступление вторичного повреждения нервной ткани. Известно, что ПреК ГМ с помощью ЛПС приводит к уменьшению степени инфильтрации ткани мозга нейтрофилами, а также ослабляет активацию микроглии [36]. С другой стороны, пролиферация микроглии после наступления ишемии ГМ, по-видимому, является одновременно и важным саногенетическим механизмом, способствующим очистке зоны некроза от

фрагментов некротизированных клеток и завершению воспаления. Эта точка зрения находит подтверждение в работе M. Lalancette-Hebert et al. [37], продемонстрировавших увеличение площади инфаркта, вызванного транзиторной окклюзией СМА, у мышей после селективного подавления пролиферации микроглии. Изменения воспалительного и иммунного ответа, возникающие при ишемической толерантности, более подробно рассмотрены в соответствующем разделе данного обзора.

Необходимо отметить, что ПреК ГМ оказывает действие не только собственно на нейроны, но и модулирует активность других клеток нервной ткани, в частности астроцитов, клеток микроглии и эндотелия. Не исключено, что эффекты ПреК на эти типы клеток столь же важны для формирования устойчивого нейропротективного ответа, как и его эффекты на нейроны.

### Изменения метаболизма и ионного гомеостаза нейронов при ишемической толерантности

В основе ранней стадии ишемического повреждения ГМ лежат обратимые нарушения энергетического метаболизма нейронов и изменения трансмембранного распределения ионов. Ишемическое ПреК у крыс, выполненное за 24 ч до тестовой ишемии, ослабляло ингибирующий эффект пролонгированной ишемии на активность Na, К-АТФазы [38]. В запуске ишемического повреждения нейронов большое значение имеет повышение концентрации в цитоплазме ионов кальция. Ишемическое ПреК у монгольских песчанок сопровождалось повышением активности мембранных кальциевых АТФаз, а также усилением секвестрации кальция в митохондрии CA1-нейронов гиппокампа [39]. Кроме того, ПреК снижает пиковое повышение концентрации ионов кальция в CA1-нейронах гиппокампа песчанки после эпизода аноксии–реоксигенации [40]. Немалое значение в регуляции кальциевого гомеостаза нейронов имеет натрий-кальциевый обменник (NCX), который в норме осуществляет АТФ-зависимое выведение из клетки

ионов кальция в обмен на ионы натрия. В экспериментах на крысах было показано, что 3-минутная (прекондиционирующая) глобальная ишемия ГМ приводит к усилению экспрессии NCX1-изоформы натрий-кальциевого обменника в нейронах зоны CA1 гиппокампа, тогда как уровень NCX2 и 3 остается неизменным [41]. С другой стороны, 8-минутная глобальная ишемия (некроз-продуцирующая) приводила к снижению уровня экспрессии NCX2, отсутствию изменения экспрессии NCX1 и повышенной экспрессии NCX3. На основе этих данных можно сделать вывод о том, что направленность и выраженность изменений экспрессии разных изоформ NCX зависят от продолжительности и последствий ишемии.

Особое значение в субстратном обеспечении нейронов в ходе критической ишемии имеет скорость транспорта глюкозы через плазмалемму. Известно, что поступление глюкозы в эндотелиоциты и глию осуществляется через транспортер глюкозы 1 (GLUT1), тогда как для переноса глюкозы в нейроны служит транспортер глюкозы 3 (GLUT3). Прерывистое гипоксическое ПреК культур нейронов и астроцитов гиппокампа крысы сопровождается усилением поступления глюкозы внутрь клетки в ходе тестовой аноксии, а также повышением уровня мРНК GLUT1 в астроцитах и мРНК, GLUT1 и GLUT3 в нейронах [42]. Предположительно, экспрессия белков-транспортеров глюкозы в результате ПреК усиливается под действием HIF1.

Таким образом, защитный эффект ПреК ГМ может быть связан как с усилением транспорта глюкозы в нейроны и активацией анаэробного пути образования АТФ, так и с нормализацией нарушенного ионного гомеостаза нейронов. Однако более детальные данные о роли данных механизмов в реализации нейропротективных эффектов ишемической толерантности требуют проведения дальнейших исследований.

### Влияние preconditionирования головного мозга на регионарный кровоток и сосудистую реактивность

Одна из наиболее логичных гипотез, объясняющих природу защитного эффекта ишемической толерантности, состоит в том, что ПреК-стимулы способствуют усилению регионарного кровотока в зоне последующей тестовой ишемии за счет процессов артерио- и ангиогенеза. Улучшение коллатерального кровотока и перфузии микроциркуляторного русла, в особенности в зоне пенумбры, потенциально может приводить к большей сохранности нервной ткани и ограничению размера инфаркта. Несмотря на всю очевидность этой гипотезы, считать ее полностью доказанной преждевременно. Кроме того, можно утверждать, что защитные эффекты ПреК в миокарде не связаны с улучшением коллатерального кровотока [43, 44].

Данные о состоянии мозгового кровотока в ходе тестовой ишемии после ПреК противоречивы. Через 4 сут после 30-минутной окклюзии СМА или 5-минутной глобальной ишемии ГМ у крыс воспроизводили тестовую фокальную ишемию продолжительностью 2 или 3 ч [45]. У животных, preconditionированных посредством фокальной ишемии, в ходе тестовой ишемии мозговой кровоток в лобно-теменной зоне коры был значительно выше, хотя этот эффект и не сопровождался уменьшением размера инфаркта. В то же время ПреК кратковременной глобальной ишемией приводило к уменьшению площади поверхности инфаркта, но не сопровождалось

изменениями мозгового кровотока. Сходные данные об отсутствии изменений мозгового кровотока, несмотря на наличие инфаркт-лимитирующего действия, были получены и другими авторами [46]. С другой стороны, существуют данные о том, что ишемическое ПреК [47] и ПреК с помощью корковой распространяющейся депрессии [48] характеризуются улучшением перфузии ткани мозга в ходе тестовой ишемии и непосредственно после нее. Достаточно убедительные результаты об улучшении регионарного мозгового кровотока в ходе тестовой 45-минутной регионарной ишемии у мышей через 72 ч после ишемического ПреК были получены с помощью методик лазерной доплеровской флоуметрии и МРТ с мечением артериальных спинов [49].

Механизмы улучшения регионарного кровотока в мозге под действием ПреК могут включать процессы артерио- и ангиогенеза. Расширение и рост предсуществующих коллатеральных сосудов после окклюзии основной артерии получили название ангиогенеза, тогда как ангиогенез — процесс формирования новых капиллярных сетей за счет пролиферации эндотелия. Важнейшим стимулятором ангиогенеза является сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), относящийся к группе HIF1-зависимых генов. Увеличение содержания белка VEGF в коре ГМ и в гиппокампе было показано после гипоксического ПреК у новорожденных свиней [50]. Однако место и значимость ангиогенного эффекта VEGF в ограничении размера инфаркта мозга под действием ПреК трудно интерпретировать, поскольку, с одной стороны, формирующиеся под действием VEGF микрососуды характеризуются функциональной неполноценностью и весьма высокой проницаемостью, а с другой стороны, помимо ангиогенного действия, VEGF обладает рядом других потенциально нейропротективных эффектов, связанных с подавлением апоптоза и нейрогенезом [51]. Регионарный мозговой кровоток может также улучшаться под действием других белков, экспрессия которых усиливается под влиянием HIF1, а именно под действием эндотелиальной NO-синтазы [52] и эритропоэтина [53].

Отдельного внимания заслуживает вопрос о влиянии ПреК на функциональное состояние микрососудов мозга после ишемии, в период реперфузии. Известно, что значительная доля реперфузионного повреждения ГМ связана с развитием постишемического невосстановления кровотока (no-reflow), к основным механизмам которого относятся отек эндотелия, интенсивная адгезия лейкоцитов, образование микротромбов и нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации. Прямых доказательств ослабления выраженности no-reflow под действием ПреК ГМ не существует, хотя известно, что эндотелиоциты мозговых сосудов могут быть preconditionированы *in vitro* [54], а ишемическое ПреК вызывает улучшение мозгового кровотока и уменьшение степени выраженности десквамации эндотелия после тестовой ишемии у крыс *in vivo* [55].

Таким образом, к настоящему времени накоплено довольно много данных, указывающих на возможную роль усиления коллатерального мозгового кровотока и ослабления no-reflow в механизмах нейропротективного действия ПреК ГМ. В то же время для более точной оценки степени вклада этих механизмов в итоговый инфаркт-лимитирующий эффект ПреК требуются дополнительные исследования. Кроме того, изучение новых нейропротективных воздействий, включая фармакологические нейропротекторы, должно сопровождаться оценкой регионарного мозгового кровотока с использо-

ванием нескольких информативных методов регистрации кровотока и перфузии [56].

### Влияние прекондиционирования на состояние гематоэнцефалического барьера

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) препятствует поступлению в нейроны головного мозга циркулирующих с кровью потенциально токсичных веществ эндо- и экзогенного происхождения, а также элементов иммунной системы. Основным структурным элементом ГЭБ является эндотелий микрососудов ГМ, клетки которого соединены между собой плотными контактами. В формировании ГЭБ принимают участие базальная мембрана эндотелия, перicyты, астроциты и клетки микроглии.

Нарушение целостности ГЭБ — важное звено патогенеза ишемического инсульта, приводящее к развитию отека головного мозга. Ишемическое ПреК головного мозга выражается в снижении вызванного последующей перманентной ишемией повышения проницаемости ГЭБ и отека мозга у крыс [57]. Гипертермическое ПреК головного мозга у новорожденных крыс сопровождалось значительно менее выраженным по сравнению с контролем повышением проницаемости ГЭБ, которое оценивалось по интенсивности выхода в ткань мозга иммуноглобулина G [58]. В одном из последних исследований было показано, что ишемическое ПреК ГМ, выполненное за 4 дня до перманентной окклюзии СМА у мышей, приводило к достоверному уменьшению проницаемости ГЭБ на 7-й день после наступления тестовой ишемии [59]. Анализ уровня экспрессии генетических маркеров активации нейронов, эндотелиоцитов, олигодендроцитов и микроглии показал, что ПреК вызывало увеличение только содержания мРНК глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ). Этот факт говорит о наиболее важной роли астроцитов в эффекте ПреК на ГЭБ. Моделирование ГЭБ *in vitro* путем совместного культивирования эндотелио- и астроцитов подтвердило эту гипотезу [59]. Глюкозо-кислородная депривация, служившая в этих условиях ПреК-стимулом, вызывала повышение экспрессии в астроцитах ГФКБ, ИЛ 6, VEGF и цилиарного нейротрофического фактора.

Остается неясным, является ли вызванное ПреК уменьшение степени проницаемости ГЭБ причиной снижения ишемического повреждения ГМ или, напротив, его следствием. С одной стороны, подавление воспалительного ответа в ходе тестовой ишемии, характерное для ишемической толерантности, способствует сохранению целостности ГЭБ. С другой стороны, нормализация функции ГЭБ может являться активным механизмом ишемической толерантности, препятствующим поступлению лейкоцитов из системного кровотока в поврежденную ткань мозга.

### Нейро- и синаптогенез при ишемической толерантности

В постнатальном онтогенезе у млекопитающих зафиксировано образование новых нейронов из резидентных прогениторных клеток, в основном локализованных в зубчатой извилине гиппокампа и в субвентрикулярной зоне боковых желудочков. На модели окклюзии средней мозговой артерии у крыс показано, что после ПреК ишемии (10 мин) интенсивность пролиферации прогениторных клеток увеличивается в 2,7 раза, тогда как

после тестовой ишемии (60 мин) — в 3,9 раза [60]. ПреК с помощью 5-минутной аноксии не сопровождалось гибелью нейронов у новорожденных крыс, но приводило к усилению пролиферации нейронов в зубчатой извилине и субвентрикулярной зоне в течение 3 нед после эпизода ишемии, причем вновь образованные клетки мигрировали в определенные высокочувствительные к ишемии зоны ГМ, такие как СА1-зона гиппокампа [61]. Нейрогенез и миграция нейробластов из субвентрикулярной зоны в стриатум и неокортекс наблюдались также у мышей после 8-минутной билатеральной окклюзии общих сонных артерий [62]. Важнейшим механизмом нейрогенеза является увеличение интенсивности синтеза нейротрофических факторов, в особенности BDNF и VEGF.

Синаптогенез представляет собой еще один механизм регенерации нервной ткани после инфаркта и включает разрастание ветвей аксонов и изменения шипикового аппарата дендритов. Плотность дендритных шипиков СА1-нейронов гиппокампа достоверно возрастает после ишемического ПреК у монгольских песчанок [63].

### Заключение

Несмотря на интенсивное изучение механизмов ишемического ПреК ГМ в течение последних 20 лет, к настоящему времени ряд теоретических вопросов остается открытым. Наиболее важная проблема состоит в том, способно ли ПреК ГМ полностью предотвратить ишемическую гибель нейронов при пролонгированной или перманентной фокальной ишемии, либо речь идет о простом замедлении наступления необратимого повреждения. На сегодняшний день существуют убедительные данные о том, что в миокарде ПреК не предотвращает формирование некроза при перманентной перевязке коронарной артерии [64, 65]. При этом в отношении ГМ данный вопрос до сих пор вызывает дискуссию [1]. Некоторыми авторами показано, что инфаркт-лимитирующий эффект ПреК, хотя и убывает при увеличении продолжительности ишемии мозга, однако сохраняется значимым на протяжении 14 сут после перманентной перевязки средней мозговой артерии у крыс [66]. По-видимому, столь длительное сохранение инфаркт-лимитирующего эффекта ПреК мозга объясняется положительным влиянием ПреК на регионарный кровоток, в особенности в зоне пенумбры. Очевидно, что дальнейшая оптимизация протоколов индукции ПреК с разработкой оптимального для каждого индуктора протокола, о чем уже упоминалось выше, может дополнительно способствовать формированию более длительного и выраженного нейропротективного эффекта. Таким образом, защитный эффект поздней ишемической толерантности ГМ, в отличие от сердца, может сохраняться при значительно более продолжительной тестовой ишемии и не требует обязательного выполнения реперфузии в течение 1–2 ч; однако механизм этого явления требует дальнейшего изучения.

Другой интересный аспект исследования ишемической толерантности ГМ — разработка способов неинвазивной или функциональной верификации наличия нейропротективного фенотипа у человека и животных. Для этой цели могут использоваться электрофизиологические, нейрокогнитивные и поведенческие тесты. Неинвазивная диагностика или мониторинг степени толерантности ГМ к ишемии были бы очень востребованы в клинической практике для определения прогноза

у пациентов и их ответа на терапию. Однако в настоящее время эта область остается практически не изученной даже в экспериментальных исследованиях. В одном из исследований было показано, что животные, подвергшиеся ПреК, демонстрировали лучшее состояние функции памяти и более свободно ориентировались в окружающей обстановке, чем контрольные животные [67]. В то же время в работе P. Dooley и D. Corbett у прекондиционированных животных отмечался неврологический дефицит [68]. Это наблюдение поднимает еще один важный вопрос, требующий дальнейшего изучения: вызывает ли эффективный ПреК-стимул сам по себе какое-либо повреждение нервной ткани? Для точного ответа на этот вопрос недостаточно использовать только морфологические критерии, поскольку опосредованное ПреК повреждение может носить функциональный характер. Решение данной проблемы чрезвычайно важно с точки зрения возможного использования ПреК в клинической практике, т.к. соображения безопасности при этом носят определяющий характер.

Большинство исследований, посвященных изучению ишемической толерантности, выполнено с исполь-

зованием протоколов, предусматривающих однократное ПреК-воздействие и оценку исходов в одной или нескольких точках после выполнения тестовой ишемии или ишемии–реперфузии. В то же время большой теоретический и практический интерес связан с возможностью индукции «хронического» нейропротективного фенотипа. Для воспроизведения подобного длительного варианта защиты ГМ может потребоваться использование определенного режима повторных ПреК-воздействий нарастающей интенсивности, которые будут способствовать поддержанию нервной ткани в состоянии толерантности к ишемии. Очевидно, что реализация этой задачи сыграет важную роль в профилактике ишемического повреждения нервной ткани у пациентов с повышенным риском наступления ишемического инсульта.

Таким образом, дальнейшее изучение как общих принципов формирования ишемической толерантности ГМ, так и тонких молекулярных механизмов данного феномена позволит приблизиться к использованию этого варианта мощного нейропротективного воздействия в клинической неврологии.

#### REFERENCES

- Gidday J.M. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006; 7: 437–448.
- Miyawaki T., Mashiko T., Ofengeim D. et al. Ischemic preconditioning blocks BAD translocation, Bcl-xL cleavage, and large channel activity in mitochondria of posts ischemic hippocampal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105 (12): 4892–4897.
- Xu Z., Ford G.D., Croslan D.R. et al. Neuroprotection by neuroregulin-1 following focal stroke is associated with the attenuation of ischemia-induced pro-inflammatory and stress gene expression. *Neurobiol. Dis.* 2005; 19 (3): 461–470.
- Yanamoto H., Xue J.H., Miyamoto S. et al. Spreading depression induces long-lasting brain protection against infarcted lesion development via BDNF gene-dependent mechanism. *Brain Res.* 2004; 1019 (1–2): 178–188.
- Hazell A.S. Excitotoxic mechanisms in stroke: an update of concepts and treatment strategies. *Neurochem. Int.* 2007; 50 (7–8): 941–953.
- Aarts M.M., Arundine M., Tymianski M. Novel concepts in excitotoxic neurodegeneration after stroke. *Expert Rev. Mol. Med.* 2003; 5 (30): 1–22.
- Shpargel K.B., Jalabi W., Jin Y. et al., Preconditioning paradigms and pathways in the brain. *Cleve. Clin. J. Med.* 2008; 75 (2): 77–82.
- Grabb M.C., Choi D.W. Ischemic tolerance in murine cortical cell culture: critical role for NMDA receptors. *J. Neurosci.* 1999; 19: 1657–1662.
- Ridder D.A., Schwaninger M. NF-kappaB signaling in cerebral ischemia. *Neuroscience.* 2009; 158 (3): 995–1006.
- Dave K.R., Lange-Asschenfeldt C., Raval A.P. et al. Ischemic preconditioning ameliorates excitotoxicity by shifting glutamate/gamma-aminobutyric acid release and biosynthesis. *J. Neurosci. Res.* 2005; 82 (5): 665–673.
- Omata N., Murata T., Takamatsu S. et al. Region-specific induction of hypoxic tolerance by expression of stress proteins and antioxidant enzymes. *Neurol. Sci.* 2006; 27: 74–77.
- Bordet R., Deplanque D., Maboudou P. et al. Increase in endogenous brain superoxide dismutase as a potential mechanism of lipopolysaccharide-induced brain ischemic tolerance. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2000; 20: 1190–1196.
- Ohtsuki T., Matsumoto M., Kuwabara K. et al. Influence of oxidative stress on induced tolerance to ischemia in gerbil hippocampal neurons. *Brain Res.* 1992; 599: 246–252.
- Puisieux F., Deplanque D., Bulckaen H. et al. Brain ischemic preconditioning is abolished by antioxidant drugs but does not up-regulate superoxide dismutase and glutathione peroxidase. *Brain Res.* 2004; 1027: 30–37.
- Wiggins A.K., Shen P.J., Gundlach A.L. Neuronal-NOS adaptor protein expression after spreading depression: implications for NO production and ischemic tolerance. *J. Neurochem.* 2003; 87: 1368–1380.
- Mori T., Muramatsu H., Matsui T. et al. Possible role of the superoxide anion in the development of neuronal tolerance following ischaemic preconditioning in rats. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2000; 26: 31–40.
- Rosenzweig H.L., Lessov N.S., Henshall D.C. et al. Endotoxin preconditioning prevents cellular inflammatory response during ischemic neuroprotection in mice. *Stroke.* 2004; 35 (11): 2576–2581.
- Pera J., Zawadzka M., Kaminska B., Szczudlik A. Influence of chemical and ischemic preconditioning on cytokine expression after focal brain ischemia. *J. Neurosci. Res.* 2004; 78: 132–140.
- Bowen K.K., Naylor M., Vemuganti R. Prevention of inflammation is a mechanism of preconditioning-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia. *Neurochem. Int.* 2006; 49: 127–135.
- Zubakov D., Hoheisel J.D., Kluxen F.W. et al. Late ischemic preconditioning of the myocardium alters the expression of genes involved in inflammatory response. *FEBS Lett.* 2003; 547: 51–55.
- Becker K., Kindrick D., McCarron R. et al. Adoptive transfer of myelin basic protein-tolerized splenocytes to naive animals reduces infarct size: a role for lymphocytes in ischemic brain injury? *Stroke.* 2003; 34: 1809–1815.
- Lagos-Quintana M., Rauhut R., Lendeckel W., Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science.* 2001; 294: 853–858.
- Lau N.C., Lim L.P., Weinstein E.G., Bartel D.P. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science.* 2001; 294: 858–862.
- Lee R.C., Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science.* 2001; 294: 862–864.
- Sempere L.F., Freemantle S., Pitha-Rowe I. et al. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. *Genome Biol.* 2004; 5: 13.

26. He X., Zhang Q., Liu Y., Pan X. Cloning and identification of novel microRNAs from rat hippocampus. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. 2007; 39: 708–714.
27. Mishima T., Mizuguchi Y., Kawahigashi Y. et al. RT-PCR-based analysis of microRNA (miR-1 and -124) expression in mouse CNS. *Brain Res*. 2007; 1131: 37–43.
28. Dharap A., Bowen K., Place R., Li L.C., Vemuganti R. Transient focal ischemia induces extensive temporal changes in rat cerebral MicroRNAome. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2009; 29: 675–687.
29. Barone F.C., White R.F., Spera P.A. et al. Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, and interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression. *Stroke*. 1998; 29 (9): 1937–1950.
30. Stenzel-Poore M.P., Stevens S.L., Xiong Z. et al. Effect of ischaemic preconditioning on genomic response to cerebral ischaemia: similarity to neuroprotective strategies in hibernation and hypoxia-tolerant states. *Lancet*. 2003; 362: 1028–1037.
31. Lusardi T.A., Farr C.D., Faulkner C.L. et al. Ischemic preconditioning regulates expression of microRNAs and a predicted target, MeCP2, in mouse cortex. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2010; 30 (4): 744–756.
32. Saugstad J.A. MicroRNAs as effectors of brain function with roles in ischemia and injury, neuroprotection, and neurodegeneration. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2010; 30 (9): 1564–1576.
33. Takano T., Oberheim N., Cotrina M.L., Nedergaard M. Astrocytes and ischemic injury. *Stroke*. 2009; 40: 8–12.
34. Trendelenburg G., Dirnagl U. Neuroprotective role of astrocytes in cerebral ischemia: focus on ischemic preconditioning. *Glia*. 2005; 50 (4): 307–320.
35. Mabuchi T., Kitagawa K., Ohtsuki T. et al. Contribution of microglia/macrophages to expansion of infarction and response of oligodendrocytes after focal cerebral ischemia in rats. *Stroke*. 2000; 31: 1735–1743.
36. Lai A.Y., Todd K.G. Microglia in cerebral ischemia: molecular actions and interactions. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2006; 84: 49–59.
37. Lalancette-Hebert M., Gowing G., Simard A. et al. Selective ablation of proliferating microglial cells exacerbates ischemic injury in the brain. *J. Neurosci.* 2007; 27: 2596–2605.
38. De Souza Wyse A.T., Streck E.L., Worm P. et al. Preconditioning prevents the inhibition of Na, K-ATPase activity after brain ischemia. *Neurochem. Res.* 2000; 25: 971–975.
39. Ohta S., Furuta S., Matsubara I. et al. Calcium movement in ischemia-tolerant hippocampal CA1 neurons after transient forebrain ischemia in gerbils. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1996; 16: 915–922.
40. Shimazaki K., Nakamura T., Nakamura K. et al. Reduced calcium elevation in hippocampal CA1 neurons of ischemia-tolerant gerbils. *Neuroreport*. 1998; 9: 1875–1878.
41. Bojarski C., Meloni B.P., Moore S.R., et al. Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger subtype (NCX1, NCX2, NCX3) protein expression in the rat hippocampus following 3 min and 8 min durations of global cerebral ischemia. *Brain Res*. 2008; 1189: 198–202.
42. Yu S., Zhao T., Guo M. et al. Hypoxic preconditioning up-regulates glucose transport activity and glucose transporter (GLUT1 and GLUT3) gene expression after acute anoxic exposure in the cultured rat hippocampal neurons and astrocytes. *Brain Res*. 2008; 1211: 22–29.
43. Li G.C., Vasquez J.A., Gallagher K.P., Lucchesi B.R. Myocardial protection with preconditioning. *Circulation*. 1990; 82 (2): 609–619.
44. Schott R. J., Rohmann S., Braun E. R. et al. Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circulat. Res*. 1990; 66: 1133–1144.
45. Matsushima K., Hakim A.M. Transient forebrain ischemia protects against subsequent focal cerebral ischemia without changing cerebral perfusion. *Stroke*. 1995; 26 (6): 1047–1052.
46. Chen J., Graham S.H., Zhu R.L., Simon R.P. Stress proteins and tolerance to focal cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1996; 16: 566–577.
47. Nakamura H., Katsumata T., Nishiyama Y. et al. Effect of ischemic preconditioning on cerebral blood flow after subsequent lethal ischemia in gerbils. *Life Sci*. 2006; 78: 1713–1719.
48. Otori T., Greenberg J.H., Welsh F.A. Cortical spreading depression causes a long-lasting decrease in cerebral blood flow and induces tolerance to permanent focal ischemia in rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003; 23: 43–50.
49. Hoyte L.C., Papadakis M., Barber P.A., Buchan A.M. Improved regional cerebral blood flow is important for the protection seen in a mouse model of late phase ischemic preconditioning. *Brain Res*. 2006; 1121: 231–237.
50. Ara J., Fekete S., Frank M. et al. Hypoxic-preconditioning induces neuroprotection against hypoxia-ischemia in newborn piglet brain. *Neurobiol. Dis.* 2011; 43 (2): 473–485.
51. Obrenovitch T.P. Molecular physiology of preconditioning-induced brain tolerance to ischemia. *Physiol. Rev.* 2008; 88 (1): 211–247.
52. Atochin D.N., Clark J., Demchenko I.T. et al. Rapid cerebral ischemic preconditioning in mice deficient in endothelial and neuronal nitric oxide synthases. *Stroke*. 2003; 34 (5): 1299–1303.
53. Li Y., Lu Z., Keogh C.L. et al. Erythropoietin-induced neurovascular protection, angiogenesis, and cerebral blood flow restoration after focal ischemia in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2007; 27: 1043–1054.
54. Andjelkovic A.V., Stamatovic S.M., Keep R.F. The protective effects of preconditioning on cerebral endothelial cells *in vitro*. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003; 23: 1348–1355.
55. Vlasov T.D., Korzhvetskii D.E., Polyakova E.A. Ischemic preconditioning of the rat brain as a method of endothelial protection from ischemic/reperfusion injury. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2005; 35: 567–572.
56. Sutherland B.A., Papadakis M., Chen R.L., Buchan A.M. Cerebral blood flow alteration in neuroprotection following cerebral ischemia. *J. Physiol.* 2011 (in press).
57. Masada T., Hua Y., Xi G. et al. Attenuation of ischemic brain edema and cerebrovascular injury after ischemic preconditioning in the rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2001; 21: 22–33.
58. Ikeda T., Xia X.Y., Xia Y.X., Ikenoue T. Hyperthermic preconditioning prevents blood-brain barrier disruption produced by hypoxia-ischemia in newborn rat. *Brain Res*. 1999; 117: 53–58.
59. Gesuete R., Orsini F., Zanier E.R. et al. Glial cells drive preconditioning-induced blood-brain barrier protection. *Stroke*. 2011; 42 (5): 1445–1453.
60. Naylor M., Bowen K.K., Sailor K.A. et al. Preconditioning-induced ischemic tolerance stimulates growth factor expression and neurogenesis in adult rat hippocampus. *Neurochem. Int.* 2005; 47: 565–572.
61. Pourie G., Blaise S., Trabalon M. et al. Mild, non-lesioning transient hypoxia in the newborn rat induces delayed brain neurogenesis associated with improved memory scores. *Neuroscience*. 2006; 140: 1369–1379.
62. Li Y., Yu S.P., Mohamad O. et al. Sublethal transient global ischemia stimulates migration of neuroblasts and neurogenesis in mice. *Transl. Stroke Res.* 2010; 1 (3): 184–196.
63. Corbett D., Giles T., Evans S. et al. Dynamic changes in CA1 dendritic spines associated with ischemic tolerance. *Exp. Neurol.* 2006; 202: 133–138.
64. Blohin I.O., Galagudza M.M., Vlasov T.D. i dr. Zavisimost' infarkt-limitiruiushchego effekta loqal'nogo ishemicheskogo preqondicionirovaniia mioqarda ot prodolzhitel'nosti testovoi' ishemii mioqarda. *Ross. fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova*. 2008; 94 (7): 785–789.

65. Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986; 74 (5): 1124–1136.
66. Furuya K., Zhu L., Kawahara N. et al. Differences in infarct evolution between lipopolysaccharide-induced tolerant and nontolerant conditions to focal cerebral ischemia. *J. Neurosurg.* 2005; 103: 715–723.
67. Gustavsson M., Anderson M.F., Mallard C., Hagberg H. Hypoxic preconditioning confers long-term reduction of brain injury and improvement of neurological ability in immature rats. *Pediatr. Res.* 2005; 57(2): 305–309.
68. Dooley P., Corbett D. Competing processes of cell death and recovery of function following ischemic preconditioning. *Brain Res.* 1998; 794 (1): 119–126.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Шляхто Евгений Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, директор ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России, заведующий кафедрой факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

**Адрес:** 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

**Тел.:** (812) 702-37-00

**E-mail:** Shlyakhto@inbox.ru

**Баранцевич Евгений Робертович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии и мануальной медицины ФПО СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, заведующий НИО ангионеврологии ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России

**Адрес:** 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8

**Тел/факс:** (812) 233-45-26

**E-mail:** profossrerb@yandex.ru

**Щербак Наталия Сергеевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории неотложной кардиологии Института сердечно-сосудистых заболеваний СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, ведущий научный сотрудник лаборатории нанотехнологий ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России

**Адрес:** 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

**Тел.:** (812) 702-37-00

**E-mail:** shcherbakns@yandex.ru

**Галагудза Михаил Михайлович**, доктор медицинских наук, руководитель Института экспериментальной медицины ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России, профессор кафедры патофизиологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

**Адрес:** 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8

**E-mail:** galagoudza@mail.ru