

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СЦЕНАРИИ РАЗВИТИЯ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ОСНОВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ИШЕМИЧЕСКОГО КАСКАДА

Шиленко Л. А.¹, Карпов А. А.^{1,2}, Веретенникова Е. И.³,
Шиленко А. А.^{1,4}, Галагудза М. М.^{1,5}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский
государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» имени
В. И. Ульянова (Ленина)», Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский
государственный педиатрический медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Санкт-Петербургский национальный исследовательский
университет информационных технологий, механики и оптики»,
Санкт-Петербург, Россия

⁵ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт аналитического приборостроения Российской академии
наук», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Шиленко Леонид Алексеевич,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: shilenko.leo@yandex.ru

*Статья поступила в редакцию 18.08.2023
и принята к печати 24.03.2024.*

Резюме

Ишемический инсульт занимает одно из лидирующих мест среди всех причин инвалидизации и смертности. Ключевыми подходами к лечению этой патологии являются тромболитическая терапия и тромбоаспирация. Несмотря на доказанную эффективность, применение этих методов ограничено сравнительно узким терапевтическим окном. Учитывая это, сохраняется большая актуальность в дальнейшем изучении молекулярных механизмов ишемического-реперфузионного повреждения головного мозга в рамках концепции ишемического каскада. Воздействие на механизмы индукции и реализации различных видов программируемой клеточной гибели с помощью фармакологических агентов представляет собой перспективный подход к ослаблению повреждения головного мозга при ишемическом инсульте. В настоящем обзоре рассмотрены ключевые процессы, ведущие к необратимому повреждению нейронов и их гибели. Детально рассмотрены механизмы формирования и роль эксайтотоксичности, кальциевой перегрузки, оксидативного и нитрозильного стресса, дисфункции митохондрий, а также запуск сигнальных путей апоптоза и асептического воспаления. Обсужден вопрос различных вариантов клеточной гибели на фоне этих патологических процессов. Наряду с рассмотрением сигнальных путей, способствующих

прогрессии повреждения головного мозга, отдельное внимание уделено активации при ишемии протективных сигнальных механизмов, обеспечивающих повышение резистентности клетки к гибели.

Ключевые слова: головной мозг, ишемический инсульт, ишемическое-реперфузионное повреждение, клеточная гибель.

Для цитирования: Шиленко Л.А., Карпов А.А., Веретенникова Е.И. и др. Патогенетические сценарии развития ишемии головного мозга и основные элементы ишемического каскада. Трансляционная медицина. 2024; 11(1): 87-102. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-1-87-102. EDN: EYWTGT

PATHOGENETIC SCENARIOS OF THE DEVELOPMENT OF BRAIN ISCHEMIA AND THE MAIN ELEMENTS OF THE ISCHEMIC CASCADE

Leonid A. Shilenko¹, Andrei A. Karpov^{1,2},
Elizaveta I. Veretennikova³, Alexey A. Shilenko^{1,4},
Michael M. Galagudza^{1,5}

Corresponding author:

Leonid A. Shilenko,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: shilenko.leo@yandex

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Saint Petersburg Electrotechnical University "LETI", Saint Petersburg, Russia

³ Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

⁴ University ITMO, Saint Petersburg, Russia

⁵ Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Received 18 July 2023; accepted 24 March 2024.

Abstract

Ischemic stroke is one of the leading causes of disability and mortality. The key approaches to the treatment of this pathology are thrombolytic therapy and thromboaspiration. Despite their proven efficacy, the application of these methods is limited by a relatively narrow therapeutic window. There remains a great relevance in the further study of the molecular mechanisms of ischemic- reperfusion brain damage within the framework of the ischemic cascade concept. The impact on the mechanisms of induction and implementation of various types of programmed cell death with the help of pharmacological agents is a promising approach to reduce brain damage in ischemic stroke. This review considers the key processes leading to irreversible damage to neurons and their death. The mechanisms of formation and the role of excitotoxicity, calcium overload, oxidative and nitrosyl stress, mitochondrial dysfunction, as well as the triggering of signaling pathways of apoptosis and aseptic inflammation are considered in detail. The issue of various variants of cell death against the background of these pathological processes is discussed. Along with the consideration of signaling pathways that contribute to the progression of brain damage, special attention is paid to the activation of protective signaling mechanisms during ischemia, which provide an increase in cell resistance to death.

Key words: brain, cell death, ischemic stroke, ischemic-reperfusion injury.

For citation: Shilenko LA, Karpov AA, Veretennikova EI, et al. Pathogenetic scenarios of the development of brain ischemia and the main elements of the ischemic cascade. Translational Medicine. 2024; 11(1): 87-102. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-1-87-102. EDN: EYWTGT

Список сокращений: АФК — активные формы кислорода, ГМ — головной мозг, ИРП — ишемическое-реперфузионное повреждение, DAPK1 — ассоциированная с клеточной смертью протеинкиназа 1, NMDA — N-метил-D-аспартат, PARP-1 — поли[АДФ-рибоза]полимераза-1.

Введение

Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении, достигнутые в последние 20 лет, нарушения мозгового кровообращения характеризуются высокой распространенностью и тяжестью последствий. Они могут происходить по ишемическому и геморрагическому типу. Механизмы и клинические проявления ишемических нарушений зависят от калибра окклюзированных артерий головного мозга (ГМ) [1]. Так, атеротромбоз сонных и интракраниальных артерий вызывает типичный ишемический инсульт. Ишемический инсульт — это снижение интенсивности кровоснабжения тканей ГМ, в результате которого происходит уменьшение доставки к нейронам необходимого количества глюкозы и кислорода, которые требуются для обеспечения нормальной функции ГМ [2, 3]. Применение тромболитической терапии кардинальным образом улучшило прогноз у пациентов с атеротромбозом мозговых артерий. В то же время во многих случаях спонтанное либо медикаментозное восстановление кровотока после периода ишемии сопровождается парадоксальным нарастанием повреждения, в связи с чем процесс повреждения ткани ГМ при нарушениях кровообращения целесообразно рассматривать в контексте ишемического-реперфузионного повреждения (ИРП). Обструкция пенетрирующих артериол и более мелких паренхиматозных артериол, патоморфологическим субстратом которой является болезнь мелких сосудов ГМ, приводит к повреждению белого вещества, включая лейкоараоз, лакунарные инфаркты и микроинфаркты. Наибольшей чувствительностью к ишемическому повреждению характеризуется подкорковое белое вещество, находящееся на границе сосудистых бассейнов средней и передней мозговых артерий. Болезнь мелких сосудов ГМ проявляется как в виде атеросклеротического поражения мелких артерий (например, пиальных артерий и мест отхождения пенетрирующих артерий), так и в утолщении стенки сосудов артериолярного калибра, в которых не образуются атеросклеротические бляшки [4]. Важнейшим фактором риска развития болезни мелких сосудов является артериальная гипертензия, на ранних стадиях которой утолщение меди артериол происходит за счет компен-

саторной гипертрофии и гиперплазии гладкомышечных клеток [5].

По мере прогрессирования артериальной гипертензии начинает доминировать повреждение эндотелия с нарушением плотных контактов между соседними эндотелиоцитами и выраженным повышением проницаемости интимы, что приводит к ее инфильтрации такими белками плазмы крови, как фибриноген, тромбин, иммуноглобулины класса G и др. [6]. В результате активации микроглии и астроцитов запускается процесс нейровоспаления, сопровождающийся повреждением в основном белого вещества ГМ. В стенке артериол при этом также развивается воспаление, завершающееся постепенной гибелью гладкомышечных клеток и параллельным отложением аморфного белка гиалина. Морфологическими коррелятами болезни мелких сосудов являются артериолосклероз и липогиалиноз [7, 8]. В наиболее тяжелых случаях развивается фибриноидный некроз артериол, для которого характерна деструкция стенки артериолы и выраженное периваскулярное воспаление.

Этиологические факторы ишемического инсульта

Среди этиологических факторов ишемического инсульта в настоящее время доминирует (~50 %) атеротромбоз экстракраниальных и интракраниальных мозговых артерий, возникающий при дестабилизации и разрыве атеросклеротической бляшки с последующим тромбозом [9] (рис. 1). На втором месте среди причин ишемического инсульта находится болезнь мелких сосудов (~25 %), ассоциированная с возникновением лакунарных инсультов и микроинсультов. Несмотря на то, что размер инфаркта при лакунарном инсульте значительно меньше, чем при атеротромботическом поражении, последствия лакунарного и более обширного инсульта могут быть сравнимы. В настоящее время общепризнано, что локализация инсульта имеет столь же важное значение, как и его объем; данное положение получило воплощение в виде концепции так называемой «стратегической зоны» инфаркта [10]. Последние исследования с сопоставлением симптомов и локализации позволили выявить такие ключевые зоны, как левая угловая извилина, левые базальные ганглии, белое вещество вокруг базальных ганглиев. Третьей важнейшей причиной ишемического инсульта является эмболия артерий ГМ, которая отмечается приблизительно в 20 % случаев [11].

Основные источники эмболов при эмбологенном ишемическом инсульте представлены в таблице 1. В 5 % случаев ишемический инсульт возникает вследствие редких причин, которые

подразделяются на воспалительные и невоспалительные заболевания артерий ГМ. К невоспалительным заболеваниям могут быть отнесены фибромускулярная дисплазия, радиационная васкулопатия, болезнь моямая, болезнь Фабри и ред-

кие наследственные формы болезни мелких сосудов ГМ. К воспалительным заболеваниям артерий ГМ относятся изолированный ангиит центральной нервной системы, височный артериит и другие васкулиты.

Таблица 1. Виды эмболии и источники эмболов при эмболическом ишемическом инсульте

Table 1. Types of embolism and sources of emboli in embolic ischemic stroke

Вид эмболии	Место образования эмболов
Кардиогенная	Левые отделы сердца: - легочные вены - левое предсердие - левый желудочек
Парадоксальная	Вены большого круга кровообращения: - вены нижних конечностей - вены малого таза - вены брюшной полости
Артерио-артериальная	Атеротромбоз аорты и крупных артерий ГМ: - тромбоэмболия - атероэмболия
Эмболия из неустановленных источников	?

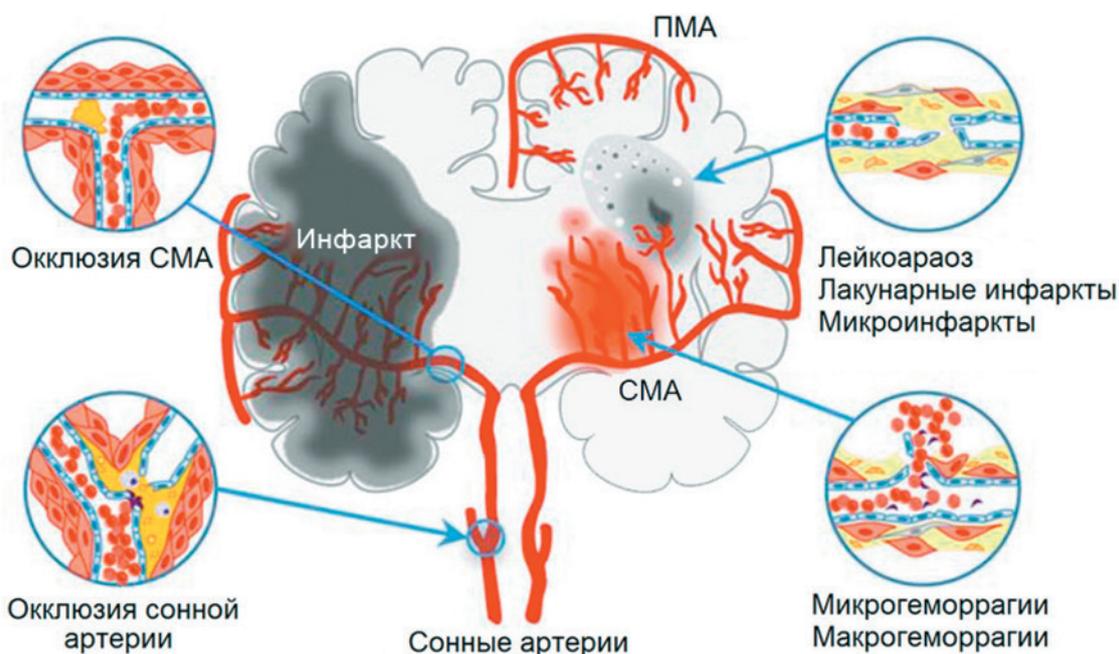


Рис. 1. Патогенетические сценарии нарушений мозгового кровообращения (Faraco G., et al. (2013) [5])

Примечание: ПМА — передняя мозговая артерия, СМА — средняя мозговая артерия.

Figure 1. Pathogenetic scenarios of cerebrovascular accidents (Faraco G., et al. (2013) [5])

Note: ACA — anterior cerebral artery, MCA — middle cerebral artery.

Ишемический каскад как ключевая концепция повреждения ткани головного мозга

Со времени первых попыток систематизации механизмов развития ишемического повреждения ГМ в литературе сложилась удобная для восприятия и понимания концепция ишемического каскада [12]. Ее сущность заключается в том, что индуцированные ишемией ГМ молекулярные, клеточные и тканевые нарушения располагаются в прямоугольной системе координат по оси ординат, а по оси абсцисс при этом откладывается время с момента начала ишемии ГМ. Общий обзор нарушений, составляющих ишемический каскад при ишемическом инсульте, может быть представлен следующим образом. Окклюзия церебральной артерии сопровождается резким снижением перфузионного давления в дистальной части артериального русла. Перфузионное давление при этом выходит за пределы нижнего порога ауторегуляции мозгового кровотока (50–60 мм рт. ст.). Несмотря на максимальную дилатацию сосудов, уровень объемного кровотока в данном сосудистом бассейне начинает линейно зависеть от перфузионного давления и становится недостаточным для обеспечения метаболических потребностей ткани [13]. Ранние функциональные нарушения в нейронах, располагающихся в наиболее чувствительных к ишемии структурах ГМ (кора больших полушарий, гиппокамп и др.), возникают уже в первые минуты и включают уменьшение пула АТФ, дисфункцию Na^+/K^+ -АТФазы и утрату ее электрогенного эффекта, что сопряжено с развитием ишемической (гипоксической) деполяризации нейронов. Деполяризация глутаматэргических нейронов приводит к высвобождению в синаптическую щель нефизиологических количеств глутамата, что запускает механизм эксайтотоксичности. Параллельно происходит активация образования активных форм кислорода (АФК) с развитием оксидативного стресса и перекисного окисления липидов. Чуть позже возникает резкое увеличение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} , что в сочетании с дисфункцией митохондрий и оксидативным стрессом приводит в конце первого — начале второго часа ишемии к формированию раннего необратимого повреждения нейронов и их массовой гибели путем некроза. При этом начинается образование ядра инфаркта. Высвобождение из поврежденных и погибших нейронов, а также из клеток глии белков теплового шока и других повреждение-ассоциированных молекулярных паттернов (или аларминов) запускает активацию механизмов врожденного иммунитета с увеличением локаль-

ной продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов, что в сочетании с увеличением проницаемости гематоэнцефалического барьера приводит к инфильтрации инфарктированного участка ГМ лейкоцитами. Первыми в очаг повреждения из кровеносного русла поступают нейтрофилы, затем — моноциты и последними — лимфоциты. Развивается нейровоспаление, которое может быть ассоциировано с наступлением «второй волны» клеточной гибели, которая в данном случае является программируемой и включает такие варианты, как апоптоз, некроптоз, аутофагия и др. В процесс вовлекаются не только рекрутированные из кровотока лейкоциты, которые осуществляют фагоцитоз фрагментов погибших клеток, но и клетки глии (микроглия и астроциты). Завершающие этапы ишемического каскада, которые реализуются спустя 5–7 дней, включают реактивный глиоз и формирование кисты, а также малоэффективные процессы ангиогенеза, миелинизации, нейрогенеза и нейрорегенерации. Ниже дается более детальная характеристика основных звеньев ишемического каскада в порядке их возникновения.

Основные механизмы ишемического-реперфузионного повреждения головного мозга Эксайтотоксичность и ранняя клеточная гибель

Эксайтотоксичность и кальциевая перегрузка относятся к ранним проявлениям ишемического каскада и вносят существенный вклад в формирование необратимого ишемического повреждения нейронов [14]. Классический механизм эксайтотоксической гибели нейронов запускается в результате ишемической деполяризации глутаматэргических нейронов и усиленного высвобождения из их терминалей возбуждающего нейротрансмиттера глутамата [15]. Усиленное высвобождение глутамата сочетается с нарушением его обратного захвата в пресинаптические окончания и астроциты, вследствие дисфункции транспортера возбуждающих аминокислот 2 (EAAT2), что приводит к резкому увеличению концентрации глутамата в синаптическом пространстве [16].

В результате происходит гиперстимуляция ионотропных рецепторов глутамата, селективно связывающих N-метил-D-аспартат (NMDA), на постсинаптической мембране, что приводит к открытию кальциевых каналов и поступлению ионизированного Ca^{2+} в цитоплазму нейронов. Увеличение концентрации Ca^{2+} опосредует развитие мощного повреждающего эффекта, поскольку происходит активация Ca^{2+} -чувствительных ферментов — кальпаинов, обладающих неизбирательным

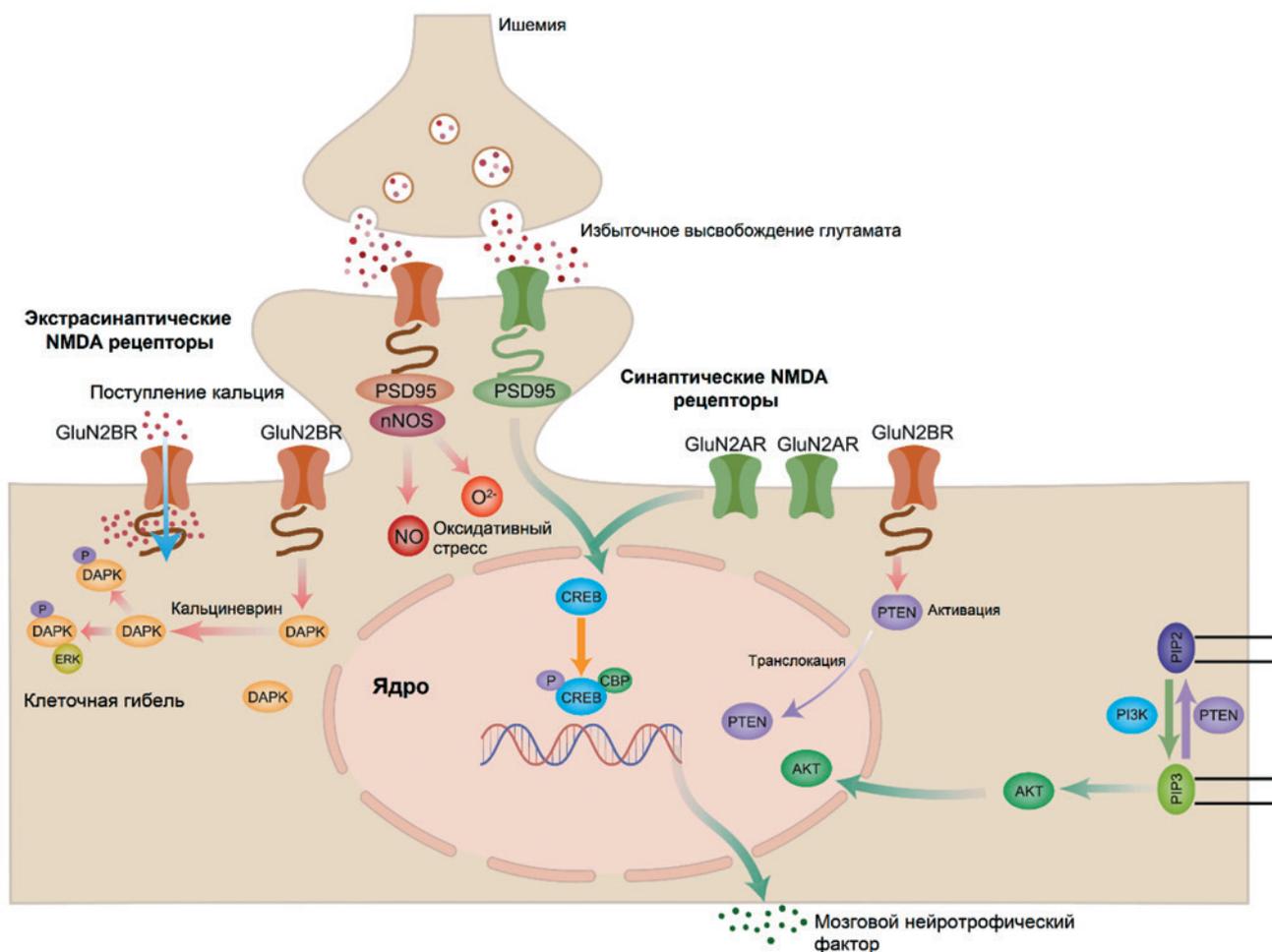


Рис. 2. Последствия активации NMDA рецепторов зависят от их молекулярного строения и локализации (Qin C, et al. (2022) [20])

Примечание: PSD95 — белок постсинаптической плотности 95, nNOS — нейрональная синтаза оксида азота, NO — оксид азота II, O²⁻ — супероксид анион-радикал, NMDA — N-метил-D-аспартат, GluN2BR — GluN2B содержащий рецептор NMDA, GluN2AR — GluN2A содержащий рецептор NMDA, DAPK — протеинкиназа, ассоциированная с клеточной смертью, p-DAPK — фосфорилированная DAPK, ERK — киназа, регулируемая внеклеточным сигналом, CREB — белок, связывающий элемент ответа циклического аденозинмонофосфата, CREB-CBP — CREB-связывающий белок, p-CREB — фосфорилированный CREB, PTEN — гомолог фосфатазы и тензина, PI3K — фосфоинозитид 3-киназа, PIP2 — фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат, PIP3 — фосфатидилинозитол 3,4,5-трифосфат, AKT — протеинкиназа B. Активация extrasинаптических NMDA рецепторов, содержащих GluN2B пептид, приводит к нейрональному повреждению и гибели. Активация синаптических рецепторов, содержащих GluN2A субъединицу, оказывает защитное действие.

Figure 2. The consequences of NMDA receptor activation depend on their molecular structure and location (Qin C, et al. (2022) [20])

Note: PSD95 — postsynaptic density protein 95, nNOS — neuronal nitric oxide synthase, NO — nitric oxide, O²⁻ — superoxide anion radical, NMDA — N-methyl-D-aspartate, GluN2BR — GluN2B-containing NMDA receptor, GluN2AR — GluN2A-containing NMDA receptor, DAPK — death-associated protein kinase, p-DAPK — phosphorylated DAPK, ERK — extracellular signal-regulated kinase, CREB — cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein, CREB-CBP — CREB-binding protein, p-CREB — phosphorylated CREB, PTEN — phosphatase and tensin homolog, PI3K — phosphoinositide 3-kinase, PIP2 — phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP3 — phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, AKT — protein kinase B. Activation of extrasynaptic NMDA receptors containing GluN2B peptide leads to neuronal damage and death. Activation of synaptic receptors containing the GluN2A subunit has a protective effect.

протеолитическим действием, и фосфолипаз С и А₂, вызывающих, соответственно, повреждение мембраны и высвобождение арахидоновой кислоты с активацией образования ее метаболитов [17]. Еще один активируемый Ca²⁺ фермент — это нейрональная NO-синтаза, активация которой приводит к гиперпродукции NO и образованию АФК и азота, в частности, пероксинитрита (ONOO⁻) [18]. Параллельно происходит активация глутаматных рецепторов других типов, а именно: рецептора α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA) и каинатных рецепторов. Активация этих рецепторов сопряжена с открытием натриевых каналов и массивным поступлением Na⁺ в цитоплазму нейронов с последующим отеком, также ведущим к клеточной гибели.

Проведенные в последние 10 лет исследования показали, что последствия гиперактивации NMDA рецепторов нельзя считать однозначно негативными, так как они могут зависеть от состава субъединиц данных рецепторов и их локализации. NMDA рецепторы, локализованные в области синапсов, содержат в своем составе GluN2A субъединицу, тогда как расположенные экстраинаптически NMDA рецепторы преимущественно содержат GluN2B субъединицу [19]. Наличие субъединиц GluN2A/GluN2B определяет интенсивность кальциевого тока после связывания рецептора с лигандом и функциональные последствия активации рецептора (рис. 2).

Показано, что активация экстраинаптических GluN2B-содержащих рецепторов сопровождается более интенсивным входом Ca²⁺ и, помимо уже указанных выше негативных последствий активации ферментов, приводит к инактивации важнейшего транскрипционного фактора CREB, торможению сигналинга киназ, активируемых внеклеточными сигналами (ERK), увеличению экспрессии проапоптотических генов (например, p53 и BAX). Известно также, что активация GluN2B-содержащих рецепторов приводит к запуску сигнального пути ассоциированной с клеточной смертью протеинкиназы 1 (DAPK1), что вызывает гибель клетки путем апоптоза [21]. В активации DAPK1 принимает участие белок кальциневрин [22]. Негативные эффекты активации экстраинаптических GluN2B-содержащих NMDA рецепторов могут объясняться и активацией сигнального пути гомолога фосфатазы и тензина (PTEN), который усиливает клеточную гибель за счет подавления пути PI3K-Akt.

Напротив, активация синаптических GluN2A-содержащих NMDA рецепторов может иметь нейропротективные последствия, поскольку кальциевый сигналинг при этом активирует

транскрипционный фактор CREB, под контролем которого находится мозговой нейротрофический фактор (BDNF), стимулирующий выживание клетки в условиях повреждения, а также обеспечивающий нейропластичность и нейрогенез. GluN2A-содержащие NMDA рецепторы также сопряжены с протективным PI3K-Akt сигнальным путем, который опосредует подавление проапоптотических факторов BAD и p53, а также ингибирует киназу гликогенсинтазы-3β [23].

Эти данные могут служить объяснением неудач при проведении клинических исследований неселективных ингибиторов NMDA рецепторов [24]. В настоящее время уже разработаны селективные ингибиторы GluN2B рецепторов, которые обладают нейропротективными эффектами в преклинических исследованиях [25].

Поступление Ca²⁺ в цитоплазму нейронов через кальциевый канал NMDA рецептора играет ключевую роль в запуске повреждения или, напротив, выживания клетки. При этом нарушения кальциевого гомеостаза нейронов при ишемии в настоящее время рассматриваются в более широком контексте, поскольку повышение [Ca²⁺]_i может происходить вследствие его высвобождения из таких внутриклеточных депо, как митохондрии и эндоплазматический ретикулум, а также в результате поступления через мембранные каналы. К таким каналам относят натрий-кальциевый обменник в «обратном» варианте его работы [26], протон-активируемый катионный канал ASIC1A [27] и каналы с транзиторным рецепторным потенциалом TRP [28]. Указанные каналы и насосы могут представлять собой перспективные фармакологические мишени для борьбы с ИПП. Например, ингибирование канала ASIC1A, который активируется в условиях индуцированного ишемией ацидоза, обладает нейропротективным эффектом [29]. Блокада EP1 рецепторов простагландина E2 также приводит к нейропротекции, так как активация указанных рецепторов нарушает способность Na⁺/Ca²⁺ обменника выводить избыток кальция из клетки [30]. Таким образом, массивное, прогрессирующее поступление в клетки Ca²⁺ играет повреждающую роль и способствует возникновению ранней волны некротической клеточной гибели.

Оксидативный и нитрозильный стресс

Оксидативное повреждение клеточных структур играет важную роль в ишемическом повреждении ГМ и дополнительно активизируется при реперфузии. В сравнении с другими органами ткань ГМ характеризуется повышенной чувствительностью к оксидативному стрессу, что связано

с невысокой активностью ферментативных антиоксидантов, обилием полиненасыщенных жирных кислот в составе мембранных фосфолипидов и сниженной активностью цитохром с оксидазы, что способствует более интенсивному образованию супероксиданиона в процессе передачи электронов по электронтранспортной цепи митохондрий [31]. Ишемия приводит к активации нескольких ферментативных систем, генерирующих АФК (рис. 3). В частности, происходит возникающий при ишемии субстратный дефицит в сочетании с окислительной инактивацией важнейшего кофактора NO-синтазы — тетрагидробиоптерина — и приводит к разобщению окисления L-аргинина и синтеза NO, в результате чего NO-синтаза фактически продуцирует АФК вместо NO [32]. Характерная для ишемии кальциевая перегрузка клетки активизирует ферментативный комплекс НАДФН-оксидазы, который продуцирует супероксиданион-радикал. Медиаторами в этом процессе выступают протеинкиназа С и NO, образующийся в результате активации нейрональной NO-синтазы [33]. Также в результате увеличения ионизированного кальция и воздействия супероксида, обра-

зуемого НАДФН-оксидазой вблизи митохондрий, происходит их деполяризация и усиление образования в них АФК [34]. Активация кальций-чувствительных протеаз способствует превращению ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу, которая служит дополнительным источником супероксиданион радикала [35].

АФК оказывают повреждающее действие за счет прямого и непрямого механизмов. Прямой механизм подразумевает непосредственное взаимодействие АФК с белками, липидами и ДНК с их окислительной модификацией и нарушением функции. Окислительная модификация белков сопровождается нарушением их конформации или частичной деградацией, что нарушает их специфические функции. Например, окислительная инактивация фермента глутамин-синтетазы в астроцитах приводит к его инактивации и нарушению превращения глутамата в глутамин, что усиливает эксайтотоксичность [36]. Окисление мембранных липидов приводит к формированию липоперекисей, а в дальнейшем — перекисных кластеров, которые вызывают фрагментацию плазмалеммы и гибель клетки. Непрямой механизм заключается

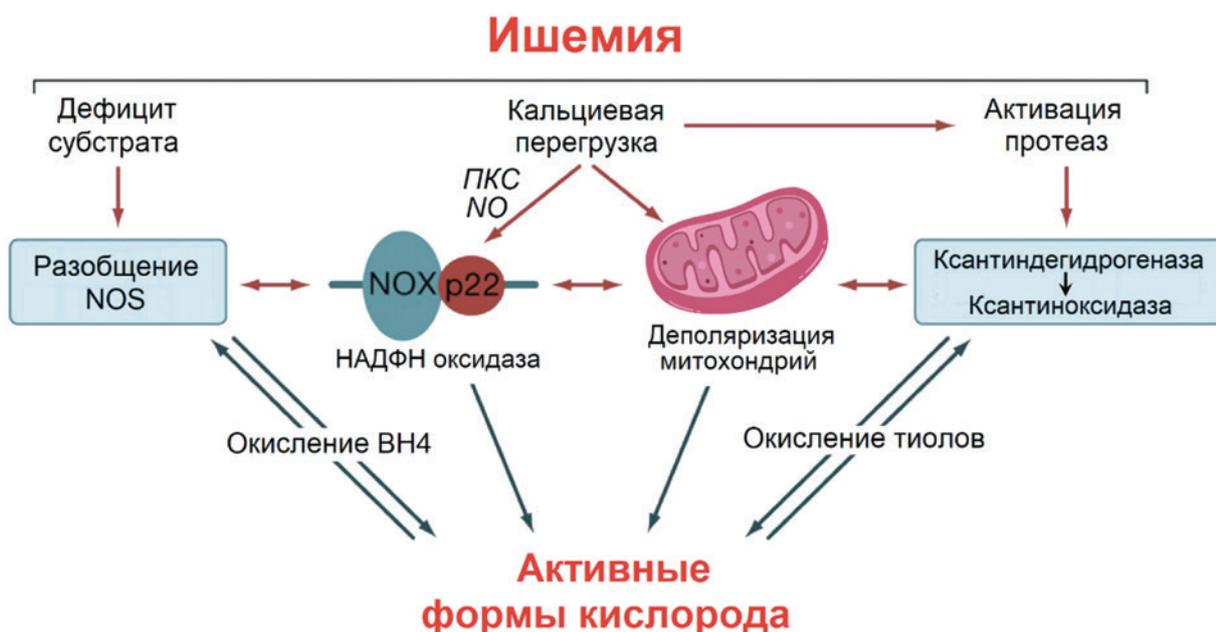


Рис. 3. Источники активных форм кислорода при ишемии головного мозга

Примечание: NOS — синтаза оксида азота, ПКС — протеинкиназа С, NO — оксид азота II, NOX — никотинамидадениндинуклеотидфосфат оксидаза, BH4 — тетрагидробиоптерин, НАДФ — никотинамидадениндинуклеотидфосфат.

Figure 3. Sources of reactive oxygen species in cerebral ischemia

Note: NOS — nitric oxide synthase, ПК — protein kinase, NO — nitric oxide, NOX — nicotinamideadeninedinucleotidephosphate oxidase, BH4 — tetrahydrobipterin, NADPH – nicotinamideadeninedinucleotidephosphate.

в активации ряда внутриклеточных сигнальных путей, в целом направленных на запуск программируемой клеточной гибели. Известно, что АФК активируют белок p53, представляющий собой транскрипционный фактор, контролирующей экспрессию проапоптотических белков Bax, Bid и PUMA [37]. Кроме того, p53, наряду с самими АФК, способствует открытию митохондриальной поры, в результате чего из межмембранного пространства митохондрий высвобождаются цитохром с и апоптоз-индуцирующий фактор, которые активируют каспазы и вызывают апоптоз [38].

Не менее важную роль в механизмах повреждения нейронов играют активные формы азота, к которым относятся NO, пероксинитрит, диоксид азота, нитрозопероксикарбонат и др. Активные формы азота ингибируют ключевые ферменты митохондрий, способствуют открытию митохондриальной поры, повреждают ДНК и активируют кальциевые каналы TRPM7 подтипа [28, 39]. Еще один механизм повреждения связан с тем, что NO модифицирует остатки цистеина в белках за счет взаимодействия с тиольными группами и образования производных S-нитрозотиола. Этот вариант посттрансляционной модификации белка оказывает значимое влияние на функцию клетки в условиях ишемии. Известно, например, что нитрозилирование сопровождается изменением функциональной активности таких важных в контексте ИРП белков, как каспазы, металлопротеиназы, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа и др. [40, 41].

С учетом ключевого значения оксидативного стресса в ИРП ГМ фармакологическое ослабление генерации АФК или их инактивация рассматривались в качестве перспективного кардио- и нейропротективного подхода. К сожалению, многочисленные клинические исследования эффективности антиоксидантов при ишемическом инсульте не показали значимого изменения конечной точки [42]. Одним из теоретических объяснений может служить то, что АФК в небольших количествах выполняют важнейшую сигнальную функцию и регулируют ряд ключевых физиологических процессов [43, 44]. В связи с этим, необходима разработка более таргетных способов воздействия только на избыточную генерацию АФК, которая сопутствует ИРП и оказывает повреждающее действие [45].

Активация сигнальных путей и геномный ответ

Ишемическое повреждение ГМ сопровождается активацией в нейронах и клетках глии множества различных клеточных сигнальных путей [20].

В зависимости от преобладающих последствий все сигнальные пути, активирующиеся при ишемии, могут быть условно разделены на протективные и способствующие нарастанию повреждения. Фармакологические подходы к нейропротекции основаны на стимуляции протективных путей и ингибировании негативных.

Часть сигнальных путей запускается путем стимуляции мембранных рецепторов, тогда как другие не требуют активации рецепторов лигандами. По механизму реализации сигнальные пути могут быть разделены на те, что сопровождаются только посттрансляционной модификацией белков-мишеней, и те, что завершаются изменением экспрессии генов (геномный ответ). Во втором случае, как правило, сигнальный путь содержит тот или иной транскрипционный фактор. Внутриклеточные сигнальные пути при ишемии ГМ можно классифицировать в зависимости от этапа ишемического каскада. В таблице 2 представлена более подробная информация о сигнальных путях и их связи с основными звеньями ишемического каскада.

Дисфункция митохондрий

Митохондрии играют важнейшую роль в механизмах ИРП ГМ практически на всех этапах ишемического каскада. Буквально в первые минуты после наступления критической ишемии ГМ в митохондриях из-за отсутствия кислорода прекращается транспорт электронов по электрон-транспортной цепи, в результате чего снижается протонный градиент и прекращается продукция АТФ. Несколько позже вследствие перегрузки кальцием происходит деполяризация мембраны митохондрий, сопровождающаяся гиперпродукцией АФК, оказывающих повреждающее действие. Еще одно ключевое событие, связанное с митохондриями и играющее важную роль в развитии реперфузионного повреждения ГМ, — это открытие митохондриальной поры, регулирующей проницаемость внутренней мембраны митохондрий. Открытие митохондриальной поры стимулируется рядом факторов, в числе которых повышение концентрации Ca^{2+} и повышение pH в матриксе митохондрий выше 7,0, усиленное образование АФК и частичная деполяризация мембраны митохондрий ($\Delta\psi_M$). Другие факторы, способствующие открытию поры, — это неорганический фосфат, жирные кислоты и проапоптотические молекулы. Открытие поры вызывает немедленную полную деполяризацию мембраны митохондрий (снижение $\Delta\psi_M$), приводя к потере электрохимического градиента. В этой ситуации АТФ-синтаза начина-

Таблица 2. Внутриклеточные сигнальные пути, активирующиеся при ишемическом-реперфузионном повреждении головного мозга

Table 2. Intracellular signaling pathways activated during ischemia-reperfusion injury of the brain

Процесс	Сигнальный путь	Биологическое значение	Источник
Эксайтотоксичность (стимуляция NMDA рецепторов)	Фосфатидилинозитол-3ОН-киназа (PI3K) — протеинкиназа B (Akt)	Нейропротекция (инактивация проапоптотических белков Bad, p53 и др.)	Jo H., et al. (2012) [46]
	Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) — цАМФ-зависимый транскрипционный фактор CREB	Нейропротекция (экспрессия генов, уменьшающих апоптоз и увеличивающих выживание)	Zhang Y., et al. (2017) [47]
	Путь гомолога фосфатазы и тензина (PTEN)	Усиление клеточной гибели (подавление пути PI3K/Akt)	Ning K., et al. (2004) [48]
	Путь кальциневрина — ассоциированной с клеточной смертью протеинкиназы 1 (DAPK1)	Усиление апоптоза	Shamloo M., et al. (2005) [49]
	Белок постсинаптической плотности PSD-95 — нейрональная NO-синтаза	Гиперпродукция NO, ранняя клеточная гибель	Zhou L., et al. (2010) [50]
Дисфункция митохондрий и оксидативный стресс	Путь индуцируемого гипоксией фактора 1 α (HIF-1 α)	Защитная роль, повышение устойчивости клетки к гипоксии (транскрипция генов устойчивости)	Kim J. W., et al. (2006) [51]
	Путь транскрипционного ядерного фактора Nrf2 — элементов антиоксидантного ответа (ARE)	Нейропротекция (усиление экспрессии противовоспалительных белков и антиоксидантов)	Dinkova-Kostova A. T., et al. (2015) [52]
	Путь казеин киназы 2 (CK2)	Антиоксидантный эффект	Kim G.S., et al. (2012) [53]
Аутофагия	Путь протеинкиназы — мишени рапамицина млекопитающих (mTOR)	Ограничение аутофагии	Kim Y. C., et al. (2015) [54]
	Путь беклин — Bcl2	Регуляция аутофагии	Rami A. (2008) [55]
Апоптоз	Внешний путь запуска апоптоза (лиганд — рецептор — Fas-ассоциированный белок с доменом смерти — каспаза-8)	Независимая от митохондрий стимуляция апоптоза	Datta A., et al. (2020) [56]
	Внутренний или митохондриальный путь запуска апоптоза (цитохром с — апоптоз-индуцирующий фактор — каспаза-9)	Апоптоз, опосредованный открытием митохондриальной поры	Datta A., et al. (2020) [56]
	Путь p53	Усиление экспрессии проапоптотических белков Bax, Bid и PUMA	Miyashita T., et al. (1995) [37]
	Путь Notch	Стимуляция апоптоза совместно с p53	Balaganapathy P., et al. (2018) [57]
Нейровоспаление	Путь HMGB1 — толл-подобный рецептор (TLR) — ядерный транскрипционный фактор κ B (NF κ B)	Стимуляция воспаления за счет экспрессии генов провоспалительных цитокинов, адгезионных молекул, хемокинов	Shi S., et al. (2013) [58]
	Путь сфингозин-1-фосфатных рецепторов (SP1R)	Стимуляция микроглии	Qin C., et al. (2017) [59]
	Сборка NLRP1 инфламмосомы	«Экстренный» запуск воспаления, пироптоз	Fann D. Y., et al. (2013) [60]
Повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера	Митоген-активируемая протеинкиназа (МАПК) — киназа, регулируемая внеклеточными сигналами (ERK) — матриксные металлопротеиназы	Лизис белков плотных контактов и коллагена базальной мембраны	Maddahi A., et al. (2010) [61]

ет функционировать в обратном режиме, направленном на нормализацию $\Delta\psi_M$, и приобретает АТФазную активность. В результате митохондрии превращаются из энергопродуцирующих органелл в энергопотребляющие [62]. Кроме того, длительное открытие митохондриальной поры сопровождается поступлением воды в матрикс митохондрий и его отеком, который может спровоцировать разрыв наружной мембраны и, следовательно, потерю структурной целостности митохондрий, что приводит к высвобождению в цитозоль различных проапоптотических молекул, содержащихся в межмембранном пространстве, а именно: цитохрома с, апоптоз-индуцирующего фактора (AIF) и фактора, активирующего апоптотическую протеазу (APAF-1). Это может вызывать гибель нейронов путем апоптоза как за счет каспазного каскада, так и посредством апоптотических механизмов, независимых от каспаз.

В последние годы применительно к патогенезу ИРП ГМ в литературе активно обсуждается концепция «контроля качества митохондрий» [63]. Данная концепция базируется на представлениях о том, что совокупность митохондрий в каждой клетке динамично изменяется в зависимости от условий, в которых она находится. Изменения митохондрий касаются как их общего количества в клетке, так и степени их зрелости и функциональных свойств. Контроль качества митохондрий включает несколько взаимосвязанных процессов: биогенез митохондрий, то есть процесс их непрерывного образования из существующих органелл, аутофагию поврежденных митохондрий (митофагию), а также процессы расщепления и слияния митохондрий [64]. Молекулярные механизмы контроля качества митохондрий только начинают изучаться. Вместе с тем, известно, что при ишемическом инсульте происходит снижение биогенеза митохондрий, а активация этого процесса обладает нейропротективным действием. Восстановление и стимуляция процесса митофагии, нарушенной при ишемии ГМ, также может оказывать благоприятное действие за счет более эффективного удаления поврежденных митохондрий и ослабления внутреннего механизма запуска апоптоза [65].

Программируемая клеточная гибель

Клеточная гибель знаменует собой финальный этап ишемического каскада. Исторически при ИРП ГМ рассматривались два основных варианта клеточной гибели — некроз и апоптоз. Некротическая гибель доминирует в начале формирования ядра инфаркта и характеризуется набуханием клетки

и митохондрий с разрывом плазмалеммы. Некроз представляет собой нерегулируемый, непрограммируемый вариант клеточной гибели. Апоптоз требует наличия АТФ, в связи с чем апоптотическая гибель возникает позже и в большей степени характерна для участков ГМ с менее выраженной ишемией [66]. Апоптоз относится к программируемым вариантам клеточной гибели, представления о которых бурно развиваются в последние годы. Наряду с апоптозом, при ИРП ГМ описаны такие варианты программируемой клеточной гибели, как аутофагия, некроптоз, партанатоз, пироптоз и ферроптоз [67] (рис. 4). Ниже дается краткая характеристика этих вариантов клеточной гибели.

При аутофагии происходит энергозависимый захват внутриклеточных органелл в мембранные везикулы, называемые аутофагосомами, слияние аутофагосом с лизосомами и деградация внутриклеточных структур. Важную роль в регуляции и запуске аутофагии играет сигнальный путь, включающий АМФ-активируемую протеинкиназу и мишень рапамицина млекопитающих (mTOR) [54], а также путь индуцируемого гипоксией фактора 1α (HIF- 1α) и стресс эндоплазматической сети. Биологическое значение аутофагии в контексте ИРП ГМ достаточно противоречиво, поскольку в некоторых ситуациях аутофагия может иметь положительное значение для клетки, обеспечивая получение субстратов и энергии из поврежденных структур. При этом избыточная или слишком продолжительная стимуляция аутофагии может усиливать повреждение нейронов при ишемии [69].

Некроптоз представляет собой путь клеточной гибели, который морфологически неотличим от некроза, но при этом индуцируется лиганд-рецепторным взаимодействием и имеет точки контроля в виде рецептор-взаимодействующей протеинкиназы 3 (RIPK3) и других белков, входящих в состав так называемой некрсомы. В настоящее время в преclinical исследованиях тестируются различные молекулы, ингибирующие сигнальные механизмы некроптоза и демонстрирующие нейропротективные эффекты на моделях инсульта [70, 71].

Пироптоз — это программируемая гибель клеток врожденного иммунитета (моноцитов, макрофагов, а также клеток микроглии), которая индуцируется каспазой-1 или другими каспазами. Известно, что инициация пироптоза происходит под влиянием различных факторов, способствующих сборке инфламмосомы. Белки инфламмосомы NLRP1, NLRP2, NLRP3, NLRC4 активируют каспазу-1, которая собирается в активную форму из двух гетеродимеров. Под воздействием каспа-

зы-1 происходит расщепление ингибитора белка гасдермина D, фрагмент которого встраивается в мембрану с формированием пор диаметром до 10–14 нм. Это приводит к осмотическому набуханию клетки и лизису [72].

Ферроптоз — недавно описанная форма программируемой клеточной гибели, осуществляемая посредством Fe-зависимой генерации АФК под контролем глутатионпероксидазы; может быть ингибирована хелаторами железа и липофильными антиоксидантами. Механизм связан с ингибированием цистеин-глутаматного антипортера, обменивающего внеклеточный L-цистеин на внутриклеточный L-глутамат. В результате этого количество внутриклеточного цистеина резко снижается, что вызывает дефицит глутатиона, синтезируемого из цистеина. Истощение запаса глутатиона приводит

к гибели клетки за счет активации процессов перекисного окисления мембранных липидов [73].

Инициация такого вида клеточной гибели, как партанатоз, связана с повреждением ДНК. Это может происходить, в частности, под действием АФК и азота при эксайтотоксичности. Усиление образования пероксинитрита вызывает разрывы нитей ДНК и активацию фермента поли[АДФ-рибоза] полимеразы-1 (PARP-1), что приводит к образованию полимера PAR (поли-АДФ-рибозы). Чрезмерная активация PARP-1 приводит к 10–500-кратному увеличению формирования PAR полимера, что затрудняет протекание биохимических процессов в клетке. Важно отметить, что для активации фермента PARP-1 требуется НАД⁺, который также участвует в энергообеспечении клетки (гликолиз, цикл Кребса). Его использование приводит к исто-

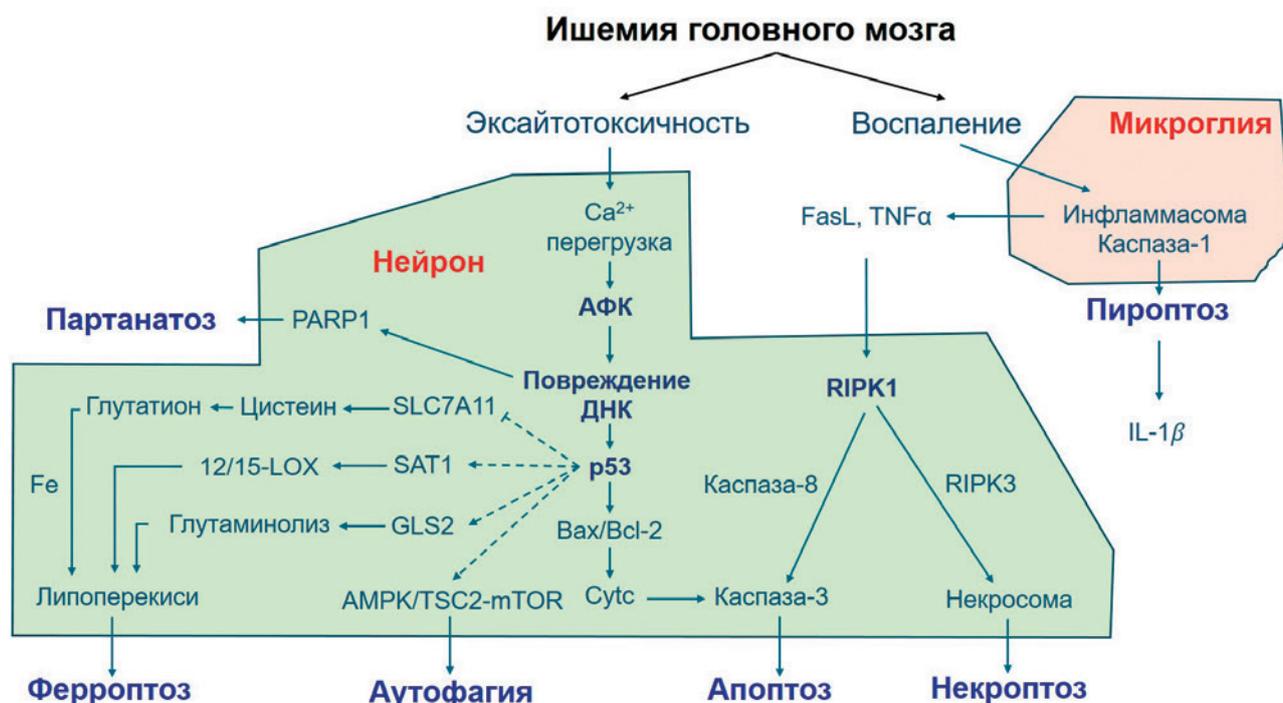


Рис. 4. Разновидности клеточной гибели при ишемии головного мозга (по Tuo Q. Z., et al. (2022) [68])

Примечание: FasL — Fas лиганд, TNFα — фактор некроза опухоли-альфа, Cytc — цитохром с, IL-1β — интерлейкин-1 бета, АФК — активные формы кислорода, SAT1 — спермидин/спермин N1-ацетилтрансфераза 1, GLS2 — глутаминаза 2, PARP1 — поли [АДФ-рибоза] полимеразы-1, RIPK — рецептор-взаимодействующая протеинкиназа, SLC7A11 — гликопротеин-ассоциированный транспортер аминокислот 11, LOX — липоксигеназа, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, Fe — ион железа.

Figure 4. Types of cell death during cerebral ischemia (Tuo Q. Z., et al. (2022) [68])

Note: FasL — Fas ligand, TNFα — tumour necrosis factor alpha, Cytc — cytochrome c, IL-1β — interleukin-1 beta, ROS — reactive oxygen species, SAT1 — spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1, GLS2 — glutaminase 2, PARP1 — poly (ADP-ribose) polymerase 1, RIPK — receptor-interacting protein kinase, SLC7A11 — glycoprotein-associated amino acid transporter 11, LOX — lipoxygenase, DNA — deoxyribonucleic acid, Fe — iron ion.

щению ресурсов клетки в виде НАД⁺ и тем самым способствует гибели. Полимер PAR, который в основном образуется в ядре, способен перемещаться в цитозоль, а затем и в митохондрии, где связывается с апоптоз-инициирующим фактором (AIF) и способствует его транслокации в ядро. Этот фактор, попадая в ядро, вызывает конденсацию хроматина и активирует эндонуклеазы, которые также участвуют в фрагментации ДНК, что и вызывает клеточную гибель [74].

Заключение

Ишемический инсульт занимает второе место среди причин смерти в мире. В настоящее время для лечения ишемического инсульта применяются тромболитическая терапия и тромбоаспирация. Несмотря на доказанную эффективность, применение этих методов ограничено сравнительно узким терапевтическим окном. В связи с этим большое значение приобретает дальнейшее изучение молекулярных механизмов ИРП ГМ в рамках концепции ишемического каскада. Ключевыми процессами, ведущими к необратимому повреждению нейронов и их гибели, являются эксайтотоксичность, кальциевая перегрузка, оксидативный и нитрозильный стресс, дисфункция митохондрий, запуск сигнальных путей апоптоза и асептическое воспаление. Наряду с сигнальными путями, способствующими прогрессии повреждения ГМ и клеточной гибели, при ишемии активируются протективные сигнальные механизмы, обеспечивающие повышение резистентности клетки к гибели. Проявлением необратимого повреждения ГМ являются различные варианты клеточной гибели, спектр которых варьирует от классического раннего некроза до таких редких и малоизученных форм программируемой клеточной гибели, как ферроптоз и партанатоз. Сравнительный вклад различных видов клеточной гибели в процесс ИРП ГМ требует дальнейшего изучения. Воздействие на механизмы индукции и реализации различных видов программируемой клеточной гибели с помощью фармакологических агентов представляет собой перспективный подход к ослаблению повреждения ГМ при ишемическом инсульте.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Финансирование / Funding

Исследование выполнено в рамках приоритетного государственного задания ФГБУ «НМИЦ им.

В. А. Алмазова» Минздрава России «Разработка универсального метода мультиорганной консервации донорских органов». / The study was carried out within the framework of the priority state task of the Almazov National Medical Research Centre “Development of a universal method of multi-organ preservation of donor organs”.

Список литературы / References

1. Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia. *Neuron*. 2013; 80(4):844–866. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.10.008.
2. Lo Eng H, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci*. 2003; 4(5):399–415. DOI: 10.1038/nrn1106.
3. Moskowitz MA, Lo Eng H, Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. *Neuron*. 2010; 67(2):181–198. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.07.002.
4. Markus HS, de Leeuw FE. Cerebral small vessel disease: Recent advances and future directions. *Int J Stroke*. 2023; 18(1):4–14. DOI: 10.1177/17474930221144911.
5. Faraco G, Iadecola C. Hypertension: a harbinger of stroke and dementia. *Hypertension*. 2013; 62(5):810–817. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01063.
6. Ungvari Z, Toth P, Tarantini S, et al. Hypertension-induced cognitive impairment: from pathophysiology to public health. *Nat Rev Nephrol*. 2021; 17(10):639–654. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41581-021-00430-6>.
7. Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol*. 2010; 9(7):689–701. DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70104-6.
8. Wardlaw JM, Smith C, Dichgans M. Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging. *Lancet Neurol*. 2013; 12(5):483–497. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70060-7.
9. Ntaios G, Lambrou D, Michel P. Blood pressure changes in acute ischemic stroke and outcome with respect to stroke etiology. *Neurology*. 2012; 79(14):1440–1448. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31826d5ed6.
10. Weaver NA, Kuijf HJ, Aben HP. Strategic infarct locations for post-stroke cognitive impairment: a pooled analysis of individual patient data from 12 acute ischaemic stroke cohorts. *Lancet Neurol*. 2021; 20(6):448–459. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00060-0.
11. Diener HC, Easton JD, Hart RG. Review and update of the concept of embolic stroke of undetermined source. *Nat Rev Neurol*. 2022; 18(8):455–465. DOI: 10.1038/s41582-022-00663-4.
12. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev*. 1999; 79(4):1431–1568. DOI: 10.1152/physrev.1999.79.4.1431.
13. Markus HS. Cerebral perfusion and stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004; 75(3):353–361.

14. Shen Z, Xiang M, Chen C, et al. Glutamate excitotoxicity: Potential therapeutic target for ischemic stroke. *Biomed Pharmacother.* 2022; 151:113125. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113125.
15. Choi DW. Excitotoxic cell death. *J Neurobiol.* 1992; 23(9):1261–1276. DOI: 10.1002/neu.480230915.
16. Choi DW, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Annu Rev Neurosci.* 1990; 13:171–182. DOI: 10.1146/annurev.ne.13.030190.001131.
17. Ankarcrona M, Dypbukt JM, Bonfoco E, et al. Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. *Neuron.* 1995; 15(4):961–973. DOI: 10.1016/0896-6273(95)90186-8.
18. Yamamoto Y, Henrich M, Snipes RL, et al. Altered production of nitric oxide and reactive oxygen species in rat nodose ganglion neurons during acute hypoxia. *Brain Res.* 2003; 961(1):1–9. DOI: 10.1016/s0006-8993(02)03826-x.
19. Stanika RI, Pivovarova NB, Brantner CA, et al. Coupling diverse routes of calcium entry to mitochondrial dysfunction and glutamate excitotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106(24):9854–9859. DOI: 10.1073/pnas.0903546106.
20. Qin C, Yang S, Chu YH, et al. Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther.* 2022; 7(1):215. DOI: 10.1038/s41392-022-01064-1.
21. Shu S, Pei L, Lu Y. Promising targets of cell death signaling of NR2B receptor subunit in stroke pathogenesis. *Regen Med Res.* 2014; 2(1):8. DOI: 10.1186/2050-490X-2-8.
22. Wang S, Shi X, Li H, et al. DAPK1 Signaling Pathways in Stroke: from Mechanisms to Therapies. *Mol Neurobiol.* 2017; 54(6):4716–4722. DOI: 10.1007/s12035-016-0008-y.
23. Swiatkowski P, Nikolaeva I, Kumar G, et al. Role of Akt-independent mTORC1 and GSK3 β signaling in sublethal NMDA-induced injury and the recovery of neuronal electrophysiology and survival. *Sci Rep.* 2017; 7(1):1539. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01826-w>.
24. Ginsberg MD. Current status of neuroprotection for cerebral ischemia: synoptic overview. *Stroke.* 2009; 40(3 Suppl):S111-S114. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.528877.
25. Sun JY, Zhao SJ, Wang HB, et al. Ifenprodil Improves Long-Term Neurologic Deficits Through Antagonizing Glutamate-Induced Excitotoxicity After Experimental Subarachnoid Hemorrhage. *Transl Stroke Res.* 2021; 12(6):1067–1080. DOI: 10.1007/s12975-021-00906-4.
26. Bano D, Munarriz E, Chen HL, et al. The plasma membrane Na⁺/Ca²⁺ exchanger is cleaved by distinct protease families in neuronal cell death. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1099:451–455. DOI: 10.1196/annals.1387.006.
27. Xiong ZG, Zhu XM, Chu XP, et al. Neuroprotection in ischemia: blocking calcium-permeable acid-sensing ion channels. *Cell.* 2004; 118(6):687–698. DOI: 10.1016/j.cell.2004.08.026.
28. Aarts MM, Tymianski M. TRPMs and neuronal cell death. *Pflugers Arch.* 2005; 451(1):243–249. DOI: 10.1007/s00424-005-1439-x.
29. Simon RP. Acidotoxicity trumps excitotoxicity in ischemic brain. *Arch Neurol.* 2006; 63(10):1368–1371. DOI: 10.1001/archneur.63.10.1368.
30. Abe T, Kunz A, Shimamura M, et al. The neuroprotective effect of prostaglandin E2 EP1 receptor inhibition has a wide therapeutic window, is sustained in time and is not sexually dimorphic. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009; 29(1):66–72. DOI: 10.1038/jcbfm.2008.88.
31. Adibhatla RM, Hatcher JF. Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 2010; 12(1):125–169. DOI: 10.1089/ars.2009.2668.
32. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Arch.* 2010; 459(6):923–939. DOI: 10.1007/s00424-010-0808-2.
33. Brennan AM, Suh SW, Won SJ, et al. NADPH oxidase is the primary source of superoxide induced by NMDA receptor activation. *Nat Neurosci.* 2009; 12(7):857–863. DOI: 10.1038/nn.2334.
34. Nicholls DG. Oxidative stress and energy crises in neuronal dysfunction. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1147:53–60. DOI: 10.1196/annals.1427.002.
35. Abramov AY, Scorziello A, Duchen MR. Three distinct mechanisms generate oxygen free radicals in neurons and contribute to cell death during anoxia and reoxygenation. *J Neurosci.* 2007; 27(5):1129–1138. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4468-06.2007.
36. Oliver CN, Starke-Reed PE, Stadtman ER, et al. Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ischemia/reperfusion-induced injury to gerbil brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990; 87(13):5144–5147. DOI: 10.1073/pnas.87.13.5144.
37. Miyashita T, Reed JC. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell.* 1995; 80(2):293–299. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90412-3.
38. Endo H, Kamada H, Nito C, et al. Mitochondrial translocation of p53 mediates release of cytochrome c and hippocampal CA1 neuronal death after transient global cerebral ischemia in rats. *J Neurosci.* 2006; 26(30):7974–7983. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0897-06.2006.
39. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev.* 2007; 87(1):315–424. DOI: 10.1152/physrev.00029.2006.
40. Gu Z, Kaul M, Yan B, et al. S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. *Science.* 2002; 297(5584):1186–1190. DOI: 10.1126/science.1073634.

41. Nakamura T, Lipton SA. According to GOSPEL: filling in the GAP(DH) of NO-mediated neurotoxicity. *Neuron*. 2009; 63(1):3–6. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.06.013.
42. Jurcau A, Ardelean AI. Oxidative Stress in Ischemia/Reperfusion Injuries following Acute Ischemic Stroke. *Biomedicines*. 2022; 10(3):574. DOI: 10.3390/biomedicines10030574.
43. Petrishev NN, Shlyakhto YeV, Tsyrlin VA, et al. The role of oxygen free radicals in the mechanisms of local and distant ischemic myocardial preconditioning. *Herald of RAMN*. 2006; 8:10–15. In Russian [Петрищев Н.Н., Шляхто Е.В., Цырлин В.А. и др. Роль свободных радикалов кислорода в механизмах локального и дистантного ишемического preconditionирования миокарда. *Вестник РАМН*. 2006; 8:10–15].
44. Faraci FM. Reactive oxygen species: influence on cerebral vascular tone. *J Appl Physiol* (1985). 2006; 100(2):739–743. DOI: 10.1152/jappphysiol.01044.2005.
45. Lipton SA. Pathologically activated therapeutics for neuroprotection. *Nat Rev Neurosci*. 2007; 8(10):803–808. DOI: 10.1038/nrn2229.
46. Jo H, Mondal S, Tan D, et al. Small molecule-induced cytosolic activation of protein kinase Akt rescues ischemia-elicited neuronal death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109(26):10581–10586. DOI: 10.1073/pnas.1202810109.
47. Zhang Y, Qiao L, Xu W, et al. Paeoniflorin Attenuates Cerebral Ischemia-Induced Injury by Regulating Ca²⁺/CaMKII/CREB Signaling Pathway. *Molecules*. 2017; 22(3):359. DOI: 10.3390/molecules22030359.
48. Ning K, Pei L, Liao M, et al. Dual neuroprotective signaling mediated by downregulating two distinct phosphatase activities of PTEN. *J Neurosci*. 2004; 24(16):4052–4060. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5449-03.2004.
49. Shamloo M, Soriano L, Wieloch T, et al. Death-associated protein kinase is activated by dephosphorylation in response to cerebral ischemia. *J Biol Chem*. 2005; 280(51):42290–42299. DOI: 10.1074/jbc.M505804200.
50. Zhou L, Li F, Xu HB, et al. Treatment of cerebral ischemia by disrupting ischemia-induced interaction of nNOS with PSD-95. *Nat Med*. 2010; 16(12):1439–1443. DOI: 10.1038/nm.2245.
51. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, et al. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab*. 2006; 3(3):177–185. DOI: 10.1016/j.cmet.2006.02.002.
52. Dinkova-Kostova AT, Abramov AY. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. *Free Radic Biol Med*. 2015; 88(Pt B):179–188. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.036.
53. Kim GS, Jung JE, Narasimhan P, et al. Release of mitochondrial apoptogenic factors and cell death are mediated by CK2 and NADPH oxidase. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012; 32(4):720–730. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.176.
54. Kim YC, Guan KL. mTOR: a pharmacologic target for autophagy regulation. *J Clin Invest*. 2015; 125(1):25–32. DOI: 10.1172/JCI73939
55. Rami A. Upregulation of Beclin 1 in the ischemic penumbra. *Autophagy*. 2008; 4(2):227–229. DOI: 10.4161/auto.5339
56. Datta A, Sarmah D, Mounica L, et al. Cell Death Pathways in Ischemic Stroke and Targeted Pharmacotherapy. *Transl Stroke Res*. 2020; 11(6):1185–1202. DOI: 10.1007/s12975-020-00806-z.
57. Balaganapathy P, Baik SH, Mallilankaraman K, et al. Interplay between Notch and p53 promotes neuronal cell death in ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2018; 38(10):1781–1795. DOI: 10.1177/0271678X17715956.
58. Shi S, Yang W, Tu X, et al. Ischemic preconditioning reduces ischemic brain injury by suppressing nuclear factor kappa B expression and neuronal apoptosis. *Neural Regen Res*. 2013; 8(7):633–638. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.07.007.
59. Qin C, Fan WH, Liu Q, et al. Fingolimod Protects Against Ischemic White Matter Damage by Modulating Microglia Toward M2 Polarization via STAT3 Pathway. *Stroke*. 2017; 48(12):3336–3346. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.018505.
60. Fann DY, Lee SY, Manzanero S, et al. Intravenous immunoglobulin suppresses NLRP1 and NLRP3 inflammasome-mediated neuronal death in ischemic stroke. *Cell Death Dis*. 2013; 4(9):e790. DOI: 10.1038/cddis.2013.326.
61. Maddahi A, Edvinsson L. Cerebral ischemia induces microvascular pro-inflammatory cytokine expression via the MEK/ERK pathway. *J Neuroinflammation*. 2010; 7:14. DOI: 10.1186/1742-2094-7-14.
62. Di Lisa F, Canton M, Menabò R, et al. Mitochondria and reperfusion injury. The role of permeability transition. *Basic Res Cardiol*. 2003; 98(4):235–241. DOI: 10.1007/s00395-003-0415-x.
63. Tian H, Chen X, Liao J, et al. Mitochondrial quality control in stroke: From the mechanisms to therapeutic potentials. *J Cell Mol Med*. 2022; 26(4):1000–1012. DOI: 10.1111/jcmm.17189.
64. An H, Zhou B, Ji X. Mitochondrial quality control in acute ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2021; 41(12):3157–3170. DOI: 10.1177/0271678X211046992.
65. Xu B, Zhu L, Chu J, et al. Esculetin improves cognitive impairments induced by transient cerebral ischaemia and reperfusion in mice via regulation of mitochondrial fragmentation and mitophagy. *Behav Brain Res*. 2019; 372:112007. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.112007.
66. Bonfoco E, Krainc D, Ankarcrona M, et al. Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1995; 92(16):7162–7166. DOI: 10.1073/pnas.92.16.7162.

67. Mao R, Zong N, Hu Y, et al. Neuronal Death Mechanisms and Therapeutic Strategy in Ischemic Stroke. *Neurosci Bull.* 2022; 38(10):1229–1247. DOI: 10.1007/s12264-022-00859-0.

68. Tuo QZ, Zhang ST, Lei P. Mechanisms of neuronal cell death in ischemic stroke and their therapeutic implications. *Med Res Rev.* 2022; 42(1):259–305. DOI: 10.1002/med.21817.

69. Tedeschi V, Vinciguerra A, Sisalli MJ, et al. Pharmacological inhibition of lysosomal two-pore channel 2 (TPC2) confers neuroprotection in stroke via autophagy regulation. *Neurobiol Dis.* 2023; 178:106020. DOI: 10.1016/j.nbd.2023.106020.

70. Dmitriev YuV, Minasian SM, Galagudza MM. Direct comparison of the infarct-limiting and hemodynamic effects of various necroptosis inhibitors in the model of prolonged static cold storage of the donor rat heart. “Arterial'naya Gipertenziya” (“Arterial Hypertension”). 2018; 24(5):581–585. In Russian [Дмитриев Ю.В., Минасян С.М., Галагудза М.М. Прямое сравнение инфаркт-лимитирующих и гемодинамических эффектов различных ингибиторов некроптоза на модели длительной холодовой консервации донорского сердца крысы. *Артериальная гипертензия.* 2018; 24(5):581–585]. DOI: 10.18705/1607-419X-2018-24-5-581-585.

71. Deng XX, Li SS, Sun FY. Necrostatin-1 Prevents Necroptosis in Brains after Ischemic Stroke via Inhibition of RIPK1-Mediated RIPK3/MLKL Signaling. *Aging Dis.* 2019; 10(4):807–817. DOI: 10.14336/AD.2018.0728.

72. Gou X, Xu D, Li F, et al. Pyroptosis in stroke-new insights into disease mechanisms and therapeutic strategies. *J Physiol Biochem.* 2021; 77(4):511–529. DOI: 10.1007/s13105-021-00817-w.

73. Wei Z, Xie Y, Wei M, et al. New insights in ferroptosis: Potential therapeutic targets for the treatment of ischemic stroke. *Front Pharmacol.* 2022; 13:1020918. DOI: 10.3389/fphar.2022.1020918.

74. Liu S, Luo W, Wang Y. Emerging role of PARP-1 and PARthanatos in ischemic stroke. *J Neurochem.* 2022; 160(1):74–87. DOI: 10.1111/jnc.15464.

Информация об авторах:

Шиленко Леонид Алексеевич, ординатор 1 года обучения кафедры факультетской терапии с клиникой, лаборант-исследователь НИЛ патологии малого круга кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Карпов Андрей Александрович, к.м.н., заведующий НИЛ патологии малого круга кровообращения, доцент кафедры патологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; ведущий научный сотрудник отдела «Техноло-

гии сильного искусственного интеллекта в физиологии и медицине» СПбГЭТУ «ЛЭТИ»;

Веретенникова Елизавета Ивановна, клинический ординатор 2 года обучения кафедры факультетской терапии им. профессора В. А. Вальдмана ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России;

Шиленко Алексей Алексеевич, лаборант-исследователь НИЛ патологии малого круга кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; инженер факультета биотехнологий Университета ИТМО;

Галагудза Михаил Михайлович, д.м.н., профессор и член-корреспондент РАН, директор Института экспериментальной медицины, заведующий кафедрой патологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; ведущий научный сотрудник лаборатории радио- и оптоэлектронных приборов биоинформационных и геномных технологий ранней диагностики патологий живых систем, ИАП РАН.

Authors information:

Leonid A. Shilenko, First-Year Resident of the Department of Faculty Therapy with a Clinic, Laboratory Assistant of Laboratory of Pulmonary Vascular Disease, Almazov National Medical Research Centre;

Andrei A. Karpov, PhD, Head of Laboratory of Pulmonary Vascular Disease, Associate Professor of the Department of Pathology, Almazov National Medical Research Centre; Leading Researcher of the Department of “Strong Artificial Intelligence Technologies in Physiology and Medicine”, Saint Petersburg Electrotechnical University ‘LETI’;

Elizaveta I. Veretennikova, 2nd year Resident Physician at the Department of Faculty Therapy named after Professor V. A. Valdman, Saint Petersburg State Pediatric Medical University;

Alexey A. Shilenko, Laboratory Assistant of Laboratory of Pulmonary Vascular Disease, Almazov National Medical Research Centre; Engineer at the Faculty of Biotechnology, University ITMO;

Michael M. Galagudza, MD, DSc, Director of Institute of Experimental Medicine, Head of the Department of Pathology, Almazov National Medical Research Centre, Professor and Corresponding Member of the Russian Academy of Science; Leading Researcher of Laboratory of Radio and Optoelectronic Devices for Bioinformatics and Genomic Technologies for Early Diagnosis of Pathologies in Living Systems, Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences.