

А.С. Федулов¹, А.А. Скороход¹, З.Б.Квачева²,
Н.И. Мезен², Е.С. Лобанок², Т.В.Дудина², И.В. Пыко¹

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ АРТЕРИАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Белорусский государственный медицинский университет¹,
Институт биофизики и генной инженерии
Национальной Академии Наук Республики Беларусь²*

На основе анализа интенсивности процессов нейронального захвата нейротрансмиттеров в регуляторных центрах головного мозга лабораторных животных и с использованием культур нейроглиальных клеток в условиях гипоксии изучены механизмы нейропротекторного действия препарата диавитол.

Многочисленными исследованиями было установлено, что ишемия и гипоксия мозга в той или иной степени, на том или ином этапе являются факторами патогенеза большинства заболеваний ЦНС различной природы [1,2,5,6,9,10,12].

На первое место в ряду патогенетических механизмов ишемия мозга выдвигается при САК, причиной которого в 55% является разрыв АА [8,11].

Мы исходили из того, что при своевременном воздействии на ткань головного мозга и организм в целом, с целью повышения или поддержания антиоксидантный статус, происходит стабилизация мембран нервных клеток, повышается их устойчивость к процессам перекисидации. Тем самым создаются условия для ограничения и купирования патологических изменений в мозговой ткани, а также предотвращение токсемии и развитие системной смешанной

гипоксии.

Общепризнанно, что на первой стадии ишемии мозга возникают функциональные изменения, прежде всего обратимая блокада синапсов. При продолжительной и тяжелой ишемии развиваются необратимые повреждения нейронов; последние гибнут по механизму некроза и (с некоторой задержкой во времени) апоптоза. После реоксигенации (реперфузии) ишемического очага отмечается усиление гибели нейронов. В развитии ишемического поражения ЦНС существенное значение имеет повышение уровня внутриклеточного кальция, концентрации возбуждающих аминокислот (глутамата, аспартата) и накопление продуктов свободнорадикального окисления. Одним из компонентов каскада патологических реакций, развивающихся при депривации энергетики клетки, служит угнетение активности гемопротеидов концевых оксидазных систем, в частно-

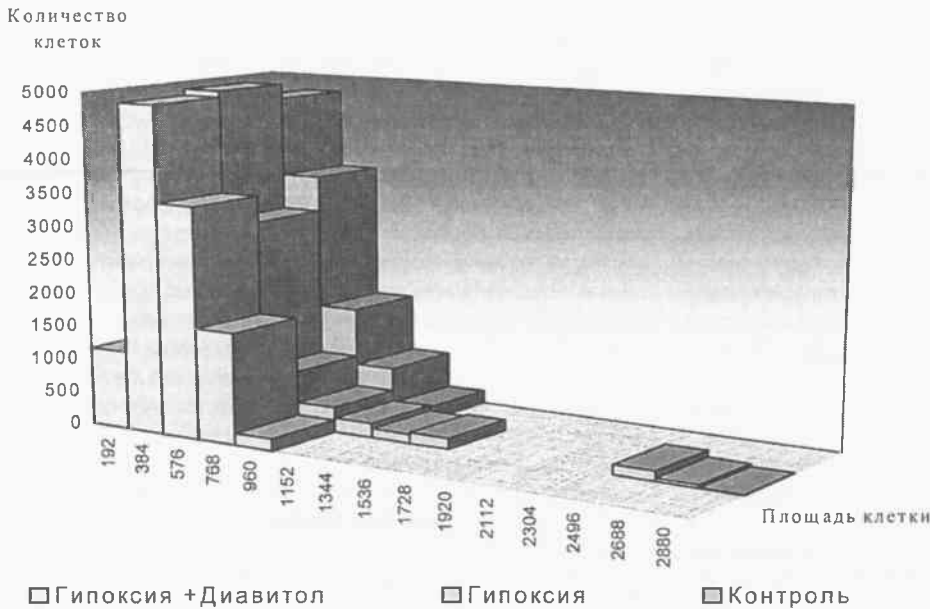


Рис.1. Влияние диавитола на распределение астроцитов по площадям в перевиваемой культуре глиомы крысы С₆ при гипоксии

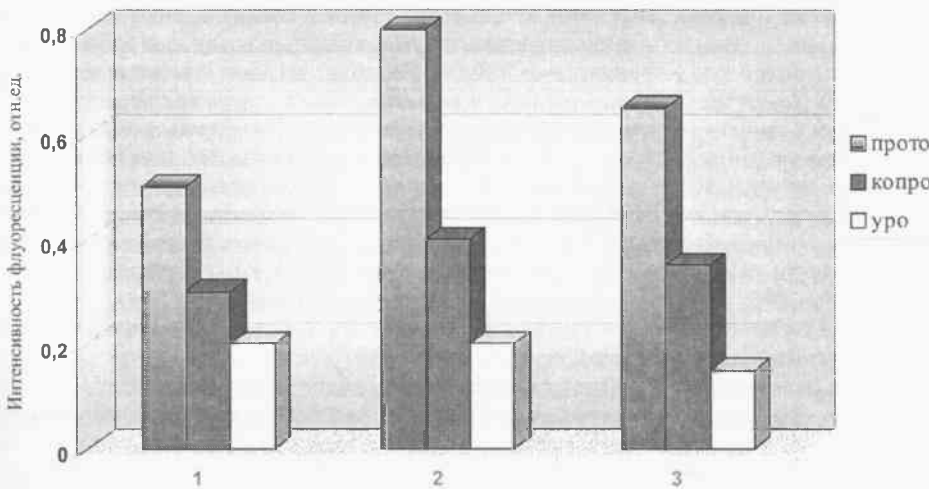


Рис.2. АЛК-индуцируемое накопление порфиринов в клетках глиомы С₆ в норме (1) и после воздействия гипоксии (2) и в присутствии (3) диавитола.

сти, эндогенных порфиринов (уро-, копро-, протопорфиринов), которое приводит к истощению адаптационных и компенсаторных механизмов. Известно, что как при гипоксии, так и при воздействии ряда других экстремальных факторов (длительная физическая нагрузка, ионизирующая радиация в малых дозах и т.д.) в первые часы после воздействия отмечается стрессовая активация гипоталамо-гипофиз-адренкортикальной (ГГАКС), симпато-адреналовой и других нейроэндокринных систем: гипоталамус – периферические эндокринные железы [4]. Глюкокортикоидные гормоны оказывают модулирующее влияние на все этапы нейромедиаторного процесса, в том числе и на нейрональный захват нейротрансмиттеров [3]. Сложность и взаимозаменяемость нейрорегуляторных механизмов, обуславливающих высокие резервные возможности ЦНС при экстремальных воздействиях на целостный организм, далеки от расшифровки. В тоже время выяснение “узких” звеньев интегративной деятельности мозга при моделировании экстремальных состояний способствует патогенетически обо-

снованному подходу к коррекции нарушений функций с помощью фармакологических препаратов. Сказанное определяет актуальность дальнейшего изучения механизмов гипоксического стресса и разработки новых медикаментозных средств, направленных на увеличение резистентности организма и нервной системы и ускоряющих нормализацию функций в постгипоксический (реперфузионный) период.

Целью исследования явилось изучение механизмов нейропротекторного действия препарата диавитол на основе анализа интенсивности процессов нейронального захвата нейротрансмиттеров в регуляторных центрах головного мозга лабораторных животных и с использованием культур нейроглиальных клеток в условиях гипоксии.

Материал и методы

Экспериментальные исследования выполнены на 60 нелинейных крысах-самцах массой тела 180-220 г. Все исследования проведены в осенне-зимний период. Животные содержались на стандартном пищевом рационе вивария БГМУ. Гипоксию моделировали “поднятием” крыс в барокамере (под контролем ректальной температуры, 37-37,5°C) на высоту 10 000 м с последующей 2-х часовой реоксигенацией. Животные были разделены на 4 группы:

1-я группа – интактные;

2-я группа – крысы, которым за 1 час до эксперимента внутрибрюшинно вводили диавитол в дозе 30 мг/кг массы (не подвергнутые воздействию гипоксии);

3-я – группа – животные подвергнутые воздействию гипоксии

с предварительным введением за 1 час физиологического раствора;

4-я группа – животные, которым за 1 час до поднятия в барокамере внутрибрюшинно вводили диавитол в дозе 30 мг/кг массы.

Животных выводили из эксперимента декапитацией. Извлечение мозга и все остальные операции с образцами нервной ткани проводили при температуре 0-4 °С. Интенсивность нейронального захвата ³H-холина (стабильного предшественника ацетилхолина в нервной ткани), ¹⁴C-ГАМК и ¹⁴C-глицина определяли в “грубой” синапсомальной фракции ряда структур головного мозга: теменной зоне коры больших полушарий (ТК), медиобазальном гипоталамусе (ГТ), ядрах шва (ЯШ) и голубоватом пятне (ГП), взятых с помощью микротроакара из охлажденных до консистенции “сычужного сыра” блоков мозга с применением микрофильтров “Владипор” (г.Владимир) с диаметром пор 2,5 мкм. Учитывая, что функциональная асимметрия головного мозга

имеет биохимическую основу, все исследования проводились на его левосторонних структурах. Рецепторное связывание ³H-кортикостерона определяли по методу [7] и оценивали как разницу между общим и неспецифическим связыванием. Для удаления непрореагировавшего гормона в каждую пробирку вносили биогель (Akrilex P-10) (Венгрия). Использованы радиометки с удельной активностью 40 и 20 МБк предприятия "Изотоп" (Санкт-Петербург). Радиоактивность проб измеряли на бета-счетчике "Mark-III. Tracor" (США) и выражали в числе распадов/мин/мг сырой ткани.

В работе также использовали перевиваемую культуру нейроглиальных клеток глиомы крыс C₆. Посевная доза составляла 150 000 клеток/мл питательной среды. В качестве ростовой среды использовали питательную среду Игла (MEM, Sigma) с добавлением 10% эмбриональной сыворотки, 100 мкг/мл среды гентамицина (Sigma). Для исследования брали культуру в фазе логарифмического роста клеток (3-и сутки после посева) со сформированным монослоем.

Гипоксическое воздействие на клетки осуществляли в герметической термостатируемой (37°C) камере (ВОИР Института биофизики АН РФ, г.Пуцзино) с газовой смесью, содержащей 95% N₂ и 5% CO₂ в течение 24 часов.

Препарат Диавитол получают из эмбриональной крови телят, он представляет собой мультимодальный пептидергический комплекс биологически активных веществ. Диавитол в интервале концентрации 20-60 мкг/мл добавляли в ростовую среду культур нервной ткани за 0,5 часа до помещения их в гипоксические условия.

Цитоморфологический анализ культур проводили после обработки их фиксатором Дюбоск-Бразил-Буэна и окраски гематоксилином Бемера и 0,5% раствором эозина на световом микроскопе «Bioscan-AT». Митотическую активность определяли по количеству делящихся клеток на 1000 просчитанных в поле зрения микроскопа и выражали в промиле (‰).

Для исследования функциональной активности клеток определяли индуцируемое 5-аминолевулиновой кислотой (АЛК) накопление эндогенных порфиринов. С этой целью клетки снимали с подложки, ресуспензировали, отмывали с помощью центрифугирования (400 г, 5-7 минут), разводили в % к контролю

забуференном фосфатами физиологическом растворе хлорида натрия до конечной концентрации 5±10⁶ клеток/мл.

После экстракции эндогенных порфиринов из клеток, содержание пигментов определяли по интенсивности флуоресценции солянокислых экстрактов: в случае уро- (УП) в 0,5 н, копро-(КП) в 0,1 н и протопорфирина (ПП) в 1,5 н HCl (длина волны возбуждающего света – λ возб. – 405;399,5 и 407 нм для УП, КП и ПП в течение 17 часов после добавления 1 мМ АЛК в культуральную среду.

Исследование состояния клеточных мембран проводили с использованием флуоресцентных зондов мероцианина 540 (Мц 540) и 1-анилинонафталин-8-сульфоната (АНС). Интенсивность флуоресценции вышеуказанных хромофоров определяли при длинах волн возбуждения / регистрации 570/610 и 35/475 нм. Флуоресцентные измерения проводили на спектрофлуориметре JY-3CS "Jonin Yvon" (Франция).

Результаты и обсуждение

1. Влияние диавитола на резистентность глиальных клеток к острому гипоксическому воздействию на моделях *in vitro*.

Морфологический анализ перевиваемой культуры глиомы крысы C₆, проводимый в логарифмической фазе роста, выявил преобладание в изучаемых культурах нервной ткани клеток астроцитоподобной формы с небольшим количеством (до 10% от общего количества) олигодендроцитов. Определялись как протоплазматические, так и фибриллярные типы астроцитов. Количественная оценка площадей клеток свидетельствует о значительном варьировании их размеров от 280 до 1128 мкм². Из профиля распределения клеток по площадям видно, что количество астроцитов размером 376-564 мкм² составляет 41%, с площадью 800-1152 мкм² – 12%, а 47% клеток имеют менее 600 мкм² (рис.1).

На основании состояния ядра, цитоплазмы и расчета ядерно-плазменного отношения клетки размером от 800 до 1152 мкм² отнесены к так называемым реактивным (с повышенной функциональной активностью) астроцитам, количество которых увеличивается при различных повреждающих (травма, ишемия) воздействиях, отражая адаптивную реакцию.

При культивировании нейроглиальных клеток в условиях гипоксии в течение 24 часов были выявлены выражен-

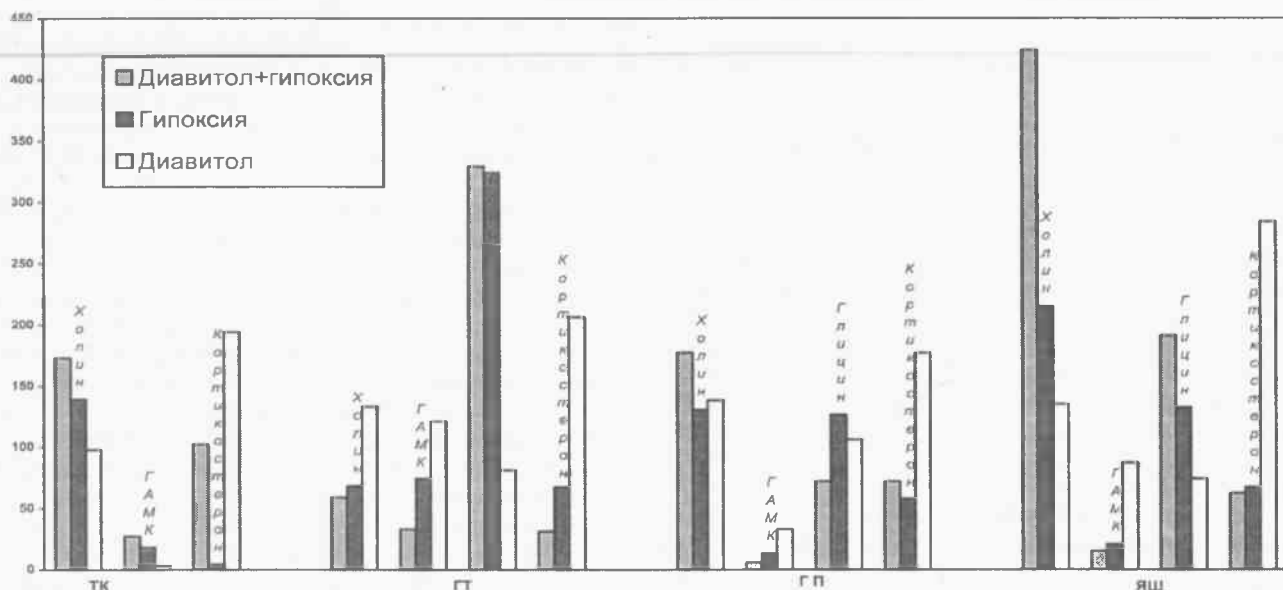


Рис.3. Интенсивность нейронального захвата нейромедиаторов и рецепторное связывание ³H-кортикостерона в синапсосомальной фракции структур ЦНС крыс при введении диавитола в условиях гипоксического воздействия.

ные морфологические признаки повреждающего действия пониженного парциального давления кислорода в газовой смеси: отек клеток (морфологическим признаком которого принято считать увеличение площади клеток более чем в 2 раза), вакуолизация их цитоплазмы, увеличение количества ядер, лизосом, ядрышек и замедление роста клеток, снижение их митотической активности. Отечные клетки, которые в этом случае составляли от 5% до 7% общей популяции, имеют площадь цитоплазмы 1152-1728 мкм², а некоторые из них (до 3-5% общей численности клеток в культуре) достигли размеров более 2600 мкм².

Культивирование клеток в условиях гипоксии при добавлении диавитола в среду роста клеток в концентрации 20-60 мкг/мл дозозависимо предотвращает развитие клеточного отека, угнетение роста и деления клеток, приближая эти показатели к норме.

Как следует из анализа распределения клеток по площадям на рисунке 1, диавитол оказывал нейропротекторное действие, которое проявлялось в снижении количества отечных клеток (клетки площадью 1152-1728 мкм² и более вообще не обнаруживались), были не столь выраженными либо отсутствовали вовсе такие морфологические признаки дегенеративных изменений в нейроглиальных клетках как вакуолизация цитоплазмы, приближались к нормальным значениям и показатели функционального состояния нейроглии, а именно – митотическая активность и скорость роста клеток.

В основе каскада метаболических превращений, которые сопровождают гипоксию, лежат многопрофильные процессы, представляющие единую взаимодействующую систему. Содержание и метаболизм эндогенных порфиринов является важной характеристикой функционального состояния клеток. Порфирины входят в состав простетических групп основных дыхательных ферментов и чутко реагируют на клеточные процессы, связанные с изменением окислительно-восстановительного баланса.

Исследование содержания отдельных видов не содержащих металла порфиринов в клетках глиомы крысы С₆, выявило преобладание в них уровня ПП. При добавлении в ростовую среду экзогенной АЛК (раннего предшественника синтеза порфиринов) наблюдается накопление пигментов, проявляющееся в увеличении интенсивности флуоресценции солянокислых экстрактов из клеток. Спектральный анализ образуемых порфиринов показал, что в основном накапливаются ПП. Нарастание флуоресценции линейно и длится более 20 часов. В условиях гипоксии в нейроглиальных клетках индуцируемой АЛК синтез порфиринов увеличивается. Содержание ПП в большинстве культур, подверженных гипоксии, возрастает в 1,5 раза, КП – в 1,4 раза. Скорость синтеза УП не изменяется. Культивирование клеток в гипоксической камере в присутствии диавитола снижает выраженность выявленных изменений – АЛК-индуцированное накопление ПП и КП приближается к норме (рис. 2). Воздействие препарата на клетки, не подвергавшиеся гипоксическому стрессу, проявляется в некотором увеличении уровня КП, возможно, за счет прямой или опосредованной регуляции активности фермента уропорфириноген-декарбоксилазы.

Первичные индуцированные гипоксией реакции, определяющие состояние клеточного метаболизма, могут возникать и развиваться в плазматических мембранах клеток. Поэтому для понимания механизмов протекторного действия диавитола нами было проведено исследование влияния препарата на изменение структурно-функцио-

нального состояния мембран клеток глиомы С₆ в условиях гипоксии.

Известно, что параметры флуоресценции Мц 540 существенно зависят от соотношения содержания в мембранах липидов в гелевом и жидкокристаллическом состоянии: зонд в основном локализуется в “жидких” областях липидного бислоя и гидрофобных “карманах” белков. После воздействия гипоксии выявлено увеличение интенсивности флуоресценции Мц 540 в суспензии глиальных клеток более, чем в 1,5 раза. Данные изменения, вероятно, обусловлены появлением дополнительных центров связывания красителя на мембране клеток. Сходным образом в “гипоксических” клетках изменяется интенсивность флуоресценции зонда АНС, несущего единичный отрицательный заряд и локализующегося на интерфазе “мембрана-буфер”.

Поскольку оба зонда имеют отрицательный заряд, можно предположить, что увеличение связывания с мембранами обоих красителей обусловлено снижением поверхностного отрицательного заряда клеток в условиях гипоксии.

В присутствии диавитола вызванные гипоксией структурные изменения плазматических мембран клеток не наблюдались.

Таким образом, полученные результаты указывают на способность диавитола увеличивать резистентность нейроглиальных клеток к острому гипоксическому воздействию на моделях *in vitro*. Противогипоксическая активность препарата проявляется в нормализации функциональной активности клеток и стабилизации структурного состояния клеточных мембран.

2. Влияние диавитола на интенсивность процессов нейронального захвата нейротрансмиттеров при экспериментальном моделировании ишемии у лабораторных животных

Задачей данного раздела работы явилось изучение нейропротекторного действия препарата диавитол на основе анализа интенсивности процессов нейронального захвата нейротрансмиттеров в регуляторных центрах головного мозга лабораторных животных в условиях гипоксии.

В условиях модельного снижения содержания кислорода во внешней среде при “подъеме” на высоту 10 000 м в барокамере мы обнаружили значительные изменения рецепторного связывания ³H-кортикостерона и глюкокортикоидзависимых процессов нейронального захвата медиаторов в отдельных структурах головного мозга крыс (рис. 3). Снижение интенсивности процесса специфического связывания ³H-кортикостерона в синапсоматальной фракции всех изученных структур мозга (48-67%), отражает, прежде всего, высокую чувствительность глюкокортикоидных рецепторов к недостатку кислорода. В то же время снижение этого процесса в медиобазальной зоне гипоталамуса при сохранности обратной связи в ГАКС косвенно характеризует повышенный уровень глюкокортикоидных гормонов в периферической крови, подобно тому, как это происходит при действии любого стресс-фактора. Дополняет картину нарушений интегративной деятельности мозга при ишемическом повреждении обнаруженный нами дисбаланс процессов нейронального захвата нейромедиаторов тормозной и возбуждающей природы, связанный и с изменением модулирующего эффекта глюкокортикоидов на эти процессы, возникающими во многом вследствие снижения процесса аккумуляции гормонов мозговыми структурами. В остром периоде гипоксических нарушений в ряде структур ЦНС, за исключением гипоталамуса, мы обнаружили значительную активацию процесса нейронального захвата холина, сопровождающуюся снижением захвата ГАМК.

Важно подчеркнуть, что во всех изученных структурах недостаточность тормозных ГАМК-ергических процессов сопровождается компенсаторным повышением интенсивности нейронального захвата глицина.

Введение диавитола интактным животным за 1 час до выведения их из эксперимента выявило эффекты, подтверждающие, прежде всего, нейротропность данного препарата: наблюдаемое повышение процесса рецепторного связывания ^3H -кортикостерона во всех изученных структурах (в 1,5-2 раза превышающее контрольный уровень) сопровождается активацией холинергической активности в структурах ЦНС (за исключением зоны ТК). Отмечен феномен гипоталамической реакции на введение диавитола, когда активация холинергических и тормозных (ГАМК- и глицинергических) процессов происходит при резком увеличении рецепторного связывания глюкокортикоидов, что свидетельствует о высоком уровне функциональной активности этой интегративной регуляторной структуры головного мозга.

Третья серия исследований с предварительным введением диавитола перед помещением крыс в барокамеру подтвердила устойчивость животных к гипоксии, в условиях дефицита кислорода в организме. В ТК отмечена нормализация процесса рецепторного связывания глюкокортикоидных гормонов со значительной интенсификацией процесса захвата холина (173% по отношению к интактным животным) и тенденцией к повышению нейронального захвата ГАМК. В гипоталамической области под влиянием диавитола происходит снижение интенсивности практически всех изучаемых процессов за исключением глицинергических. В области ГП и ЯШ высокий уровень холинергических процессов сопровождался снижением тормозной нейромедиаторной активности на фоне понижения процесса рецепторного связывания кортикостерона. В целом, действие диавитола при относительно кратковременной ("умеренной") гипоксии способствовало повышению холинергической активности на различных уровнях ЦНС: в коре мозга, гипоталамусе и ЯШ.

В заключении следует отметить высокий нейротропный эффект диавитола у интактных животных, также высокий нейропротекторный эффект у крыс, подвергнутых гипоксическому воздействию. С одной стороны, предварительное введение диавитола способствует повышению холинергической активности при гипоксии на всех изученных уровнях ЦНС; а с другой – выявленная некорректируемая диавитолом недостаточность ГАМК-ергической медиации в ТК, ГП и ГП в значительной степени компенсируется повышением активности глицинергических процессов. Последнее свидетельствует о том, что нейротропные эффекты диавитола, по-видимому, в значительной мере обеспечиваются активацией под его влиянием неспецифических физиологических адаптационных механизмов. Повышение рецепторного связывания глюкокортикоидов во всех изученных структурах ЦНС, обнаруженное в условиях повреждающего действия гипоксии, при введении диавитола в области коры мозга после 2-х часовой реоксигенации возвращается к норме, что особенно важно, так как эта зона мозга наиболее чувствительна к дефициту кислорода.

Исследования проведенные на культуре клеток глиомы крысы C_6 , находящейся в условиях гипоксии показали, что присутствие диавитола в среде роста нейроглиальных клеток в условиях гипоксии в концентрации 20-60 мкг/мл предотвращает развитие отека клеток, угнетение их роста и деления, снижает АЛК-индуцированное накопление протопорфиринов и копропорфиринов и предотвращает струк-

турные изменения плазматических мембран. Полученные результаты указывают на способность диавитола увеличивать относительную резистентность нейроглиальных клеток к острому гипоксическому воздействию на моделях *in vitro*. Антигипоксическая активность препарата проявляется в нормализации функциональной активности клеток и стабилизации структурного состояния клеточных мембран.

Изучение протекторного эффекта диавитола при экспериментальном моделировании гипоксии у крыс-самцов, выявило нейротропный эффект препарата, проявляющийся интенсификацией процессов нейронального захвата ^{14}C -ГАМК, ^{14}C -Глицин, ^3H -холина и рецепторного связывания ^3H -кортикостерона в синапсомальной фракции ряда структур головного мозга лабораторных животных. В условиях гипоксии под влиянием диавитола отмечено повышение холинергической активности в коре больших полушарий головного мозга, ядрах шва, locus coeruleus. Изложенное свидетельствует об активации неспецифических адаптационных механизмов в ЦНС, в значительной степени обеспечивающих эффективность диавитола в условиях гипоксии.

Таким образом, на основании выявленных эффектов диавитол можно отнести к средствам ранней патогенетической антистрессорной терапии, способствующей нормализации медиаторного и гормонального дисбаланса в регуляторных структурах ЦНС.

Выводы

1. Диавитол способствует активации механизмов адаптивной пластичности и саморегуляции нейродинамических процессов на клеточном и системном уровнях.

2. Диавитол увеличивает относительную резистентность нейроглиальных клеток к острому гипоксическому воздействию на моделях *in vitro*. Противогипоксическая активность препарата в культуре нейроглиальных клеток проявляется в нормализации их функциональной активности и стабилизации структурного состояния клеточных мембран.

3. Выявлен нейротропный эффект диавитола.

4. Установлено, что предварительное внутрибрюшное введение диавитола крысам в дозе 30 мг/кг массы способствует повышению нейронального захвата ^3H -холина при моделировании гипоксии на всех изученных уровнях ЦНС (кора больших полушарий головного мозга, гипоталамус, область ядер шва).

5. Препарат нормализует процесс специфического (рецепторного) связывания ^3H -кортикостерона в условиях гипоксии в коре больших полушарий головного мозга крыс.

6. Выявленное в условиях гипоксии и некорректируемое диавитолом угнетение ГАМК-ергической активности в изученных структурах мозга в значительной степени компенсируется повышением активности глицинергических процессов.

Литература

1. Балаклеевский А.И., Смелянская Г.Н., Маслова И.В. и др. Роль фосфолипидов и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в процессах рецепции нейромедиаторов и нейротропных средств в мембранах мозга / Физиология и биохимия медиаторных процессов. Тез. докл. 5 Всес. Конф., посвящ. 90-летию со дня рожд. акад. АН АрмССР, чл.-корр. АН СССР Х.С. Каштоянца. – Москва, 1990. – С. 30.

2. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные поражения поражения органов (Молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). – М.: Медицина, 1989. – 368 с.

3. Голиков П.П. Рецепторные механизмы глюкокортикоидного эффекта. – М., Наука – 1988. – 234 с..

4. Дудина Т.В., Елкина А.И., Кандыбо Т.С. // Медикобиологические аспекты аварии на ЧАЭС. – 1996.-№2.-С. 3-11..

Военная фармация и медицинская техника ☆

5. Гусев Е. И., Скворцова В.И., Коваленко А.В., Соколов М.А. Механизмы повреждения ткани мозга на фоне острой фокальной ишемии мозга / Журн. невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 1999. – Т. 99, № 2. – С. 65-70.

6. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – «Знание-М» Москва, 2000. – С. 344.

7. Жуков Д.А. Рецепторное связывание кортикостерона в структурах мозга, принимающих участие в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы // Физиол. журнал им. И.И. Сеченова. – 1983. – Т. 63, № 11.-С. 1463-1465.

8. Олешкевич Ф.В., Федулов А.С. Современное комплексное лечение сосудистых нейрохирургических заболеваний / Актуальные проблемы биологии и медицины: Сб. научн. тр. сотр. МГМИ. – Минск, 1994, Т. 1. – С. 68 – 73.

9. Промыслов М.Ш., Левченко Л.И., Демчук М.Л., Мякота А.Е. Исследование перекисного окисления липидов ликвора у больных с артериальными аневризмами головного мозга / Вопросы нейрохирургии. – 1991.-№ 3. – С. 27-29.

10. Федулов А.С. Очаговые травматические повреждения головного мозга: клиничко-экспериментальное обоснование применения антиоксидантов в комплексном лечении: Дис... докт. мед. наук: 14.00.28. / МГМИ. – М., 1996. – 259 с.

11. Afshar J.K., Pluta R.M., Boock R.J. et al. Effect of intracarotid nitric oxid on primate cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage // J. of Neurosurg. – 1995. – Vol. 83.-P. 118-122.

12. Corbett D., Nusse S. The problem of assessing effective neuroprotection in experimental cerebral ischemia // Progr. in Neurobiol. – 1998. – Vol. 54. – P. 531-548.