

Нейропротективное действие хлорида лития на модели остановки сердца у крыс

И. В. Острова, О. А. Гребенчиков, Н. В. Голубева

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Neuroprotective Effect of Lithium Chloride in Rat Model of Cardiac Arrest

Irina V. Ostrova, Oleg A. Grebenchikov, Natalya V. Golubeva

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

Хлорид лития, используемый для коррекции биполярных расстройств, обладает нейропротективным эффектом при состояниях, связанных с острым и хроническим нарушением кровообращения в головном мозге.

Цель исследования — оценить эффективность хлорида лития для предотвращения гибели высочувствительных к гипоксии нейронов гиппокампа в постреанимационном периоде после временной остановки сердца.

Материал и методы. Остановку сердца у взрослых крыс-самцов на 10 минут вызывали путем интраторакального пережатия сосудистого пучка сердца с последующей реанимацией. 9-ти животным вводили раствор 4,2% LiCl за 1 час до остановки сердца (40 мг/кг в/б), на 1-е и на 2-е сутки после реанимации (20 мг/кг в/б, соответственно). 9 нелеченных животных в те же сроки получали эквивалентные дозы физиологического раствора хлорида натрия. Контролем служили ложноперированные крысы ($n=10$). Через 7 дней методом морфометрического анализа оценили число жизнеспособных нейронов в полях CA1 и CA3/CA4 гиппокампа на срезах, окрашенных кризоловым фиолетовым по Нисслю. В отдельной серии экспериментов с помощью Western-Blot анализа в эти же сроки исследовали влияние хлорида лития на содержание белка GSK3 β (киназа гликогенсинтазы киназы-3) в ткани мозга.

Результаты. При гистологическом исследовании установили, что 10-минутная остановка сердца приводит к снижению числа жизнеспособных нейронов в поле CA1 гиппокампа — на 37,5% ($p<0,001$), в поле CA3/CA4 — на 12,9% ($p<0,05$). Применение LiCl приводило к увеличению числа жизнеспособных нейронов гиппокампа у реанимированных крыс в поле CA1 на 37% ($p<0,01$), в поле CA3/CA4 — на 11,5% ($p<0,1$) по сравнению с нелечеными животными.

При исследовании белка GSK3 β установили, что у реанимированных животных, получавших хлорид лития, содержание его фосфорилированной формы в ткани мозга было выше на 180% по сравнению с контролем ($p<0,05$), и на 150% выше, чем у нелеченных животных ($p<0,05$).

Заключение. Введение хлорида лития в постреанимационном периоде приводило к выраженной нейропротекции в нейрональных популяциях гиппокампа. Этот эффект может быть обусловлен повышением содержания фосфорилированной формы белка GSK3 β . Полученные результаты свидетельствуют о высоком потенциале лития для профилактики и лечения нейродегенеративных нарушений, вызванных временной остановкой кровообращения.

Ключевые слова: остановка сердца; ишемия-реперфузия; головной мозг; гиппокамп; литий; нейропротекция; GSK3

Lithium chloride, which is used for the treatment of bipolar disorders, has a neuroprotective effect in conditions associated with acute and chronic circulatory disorders.

The purpose of the study: to investigate the efficacy of lithium chloride for the prevention of post-resuscitation death of hippocampal neurons during the post-resuscitation period.

Material and methods. Cardiac arrest for 10 minutes was evoked in mature male rats by intrathoracic clamping of the vascular bundle of the heart, followed by resuscitation. 40 mg/kg or 20 mg/kg of 4,2% lithium chloride (LiCl) was injected intraperitoneally 1 hour before cardiac arrest, on the 1st and 2nd day after resuscitation ($n=9$). Untreated animals received equivalent doses of saline ($n=9$). Rats after a sham surgery served as a reference group ($n=10$). The number of viable neurons in the CA1 and CA3/CA4 fields of the hippocampus was estimated in slides stained with cresyl violet by day 6 or 7 postresuscitation. In a separate series of exper-

Адресс для корреспонденции:

Ирина Васильевна Острова
E-mail: irinaostrova@mail.ru

Correspondence to:

Irina V. Ostrova
E-mail: irinaostrova@mail.ru

Experimental Studies

iments, at the same terms, we studied the effect of lithium chloride on the protein content of GSK3 β (glycogen synthase kinase) in brain tissue using Western-Blot analysis.

Results. Histological assay showed that a 10-minute cardiac arrest resulted in a decrease in the number of viable neurons in the hippocampal CA1 field — by 37.5% ($P<0.001$), in the CA3/CA4 field — by 12.9% ($P<0.05$) vs. the reference group. Lithium treatment increased the number of viable neurons in resuscitated rats — in the CA1 field by 37% ($P<0.01$), in the CA3/CA4 field — by 11.5% ($P\leq 0.1$) vs. the untreated animals. It was found that lithium caused an increase in phosphorylated form of GSK3 β : by 180% vs. the reference group ($P<0.05$), and by 150% vs. the untreated animals ($P<0.05$).

Conclusion. Lithium treatment leads to a pronounced neuroprotection in the neuronal populations of the hippocampus post-resuscitation. This effect may be due to an increase in the content of the phosphorylated form of GSK3 β protein. The results indicate a high potential of lithium for the prevention and treatment of neurodegenerative disorders caused by a temporary arrest of blood circulation.

Keywords: cardiac arrest; ischemia-reperfusion; brain; hippocampus; lithium; neuroprotection; GSK3

DOI:10.15360/1813-9779-2019-3-73-82

Введение

Препараты лития более 60 лет успешно применяются в психиатрии для лечения маниакально-депрессивных психозов и биполярных расстройств [1, 2]. Было замечено, что у пациентов с биполярными расстройствами, принимающих литий, снижен риск возникновения инсульта [3, 4]. И действительно, оказалось, что литий обладает нейропротекторными свойствами, что подтвердили многочисленные экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo* [5, 6]. Литий уменьшал выраженность повреждения мозга и улучшал функциональное восстановление на различных моделях нейродегенеративных болезней, таких как инсульт [7–11], хорея Хантингтона [5], болезнь Альцгеймера [12].

Получены также положительные результаты при введении лития больным с инсультом, что проявлялось в улучшении моторных функций и вербальной памяти [13, 14]. Выявлена прямая связь между литиевой терапией и объемом серого вещества головного мозга у людей [14, 15], что указывает на способность лития снижать риск деменции. Этот факт подтверждается и другими данными [16]. Клинические исследования свидетельствуют об эффективности лития и для лечения болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона [17–19].

Было обнаружено, что литий обладает противовоспалительной, антиапоптотической активностью, усиливает процессы ангиогенеза и нейрогенеза [4, 20, 21]. Мишенями его действия считаются два различных сигнальных пути, берущих начало от активности двух разных ферментов. Исторически первым путем реализации эффектов ионов лития считалось действие на инозитмонофосфатазу (ИМФ) и, соответственно, фосфатидилинозитный сигнальный путь [2]. Однако в настоящее время одним из основополагающих механизмов реализации действия лития на организм считается ингибирование фермента гликогенсинтазы киназы-3 (GSK-3) [11, 22, 23], что, в свою оче-

Introduction

Lithium preparations have been successfully used in mental medicine for over 60 years to treat manic depressive psychosis and bipolar disorders [1, 2]. It has been noticed that patients with bipolar disorders who take lithium have a reduced risk of stroke [3, 4]. It turned out in fact that lithium possesses neuroprotective properties as supported by numerous experimental studies *in vitro* and *in vivo* [5, 6]. Lithium abated brain damage and improved functional recover in various animal models of neurodegenerative diseases, such as stroke [7–11], Huntington chorea [5], Alzheimer's disease [12].

Positive results were obtained when lithium had been administered to patients with stroke. The results were manifested in the improvement of motor functions and verbal memory [13, 14]. A direct relation between lithium therapy and gray matter in humans has been established [14, 15], which indicates the ability of lithium to reduce the risk of dementia. This fact is supported by other data as well [16]. Clinical studies evidence lithium efficacy for Alzheimer's disease and Parkinson's disease [17–19].

Lithium was found to possess anti-inflammatory, anti-apoptotic activities, to intensify angiogenesis and neurogenesis processes [4, 20, 21]. Its effect is believed to be targeted at two different signaling pathways originating from the activity of two different enzymes. Historically, the action on inositol monophosphatase (IMP) and, correspondingly, phosphatidylinositol signaling pathway was considered the first pathway of realization of lithium ion effects [2]. Currently, however, inhibition of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) [11, 22, 23], which, in turn, leads to activation of different signaling cascades aimed at cell survival [12], is regarded as one of the essential mechanisms of lithium action.

All experimental investigations dedicated to neuroprotective properties of lithium salts are based on the modeling of focal or global brain ischemia [24]. However, in clinical practice, the most common cause of total cerebral ischemia is circula-

редь, приводит к активации различных сигнальных каскадов, направленных на выживание клеток [12].

Все экспериментальные работы, посвященные изучению нейропротекторных свойств солей лития, выполнены на моделях фокальной или глобальной ишемии головного мозга [24]. Однако, в клинической практике наиболее частая причина тотальной церебральной ишемии — остановка кровообращения [25]. Известно, клиническая смерть существенно отличается по патогенезу и последствиям от изолированной ишемии мозга, и прежде всего наличием патогенных экстрацеребральных факторов [26–28], что обуславливает необходимость изучения механизмов развития постреанимационной патологии мозга на моделях тотальной ишемии организма. В предыдущих исследованиях было показано, что пирамидные клетки гиппокампа, играющего важную роль в высшей нервной деятельности организма, в высокой степени подвержены действию ишемии-реперфузии после временной остановки сердца [27, 29, 30]. Снижает ли литий выраженность повреждения нейронов гиппокампа в постреанимационном периоде, и имеет ли при этом значение влияние лития на активность белка GSK3 β , остается невыясненным.

Цель исследования — оценить эффективность применения хлорида лития для предотвращения постреанимационной гибели нейронов гиппокампа в постреанимационном периоде.

Материал и методы

Моделирование клинической смерти. Эксперименты провели согласно рекомендациям Этического комитета ФГБНУ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава СССР №755 от 12.08.1977) на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах (масса 180–280 г). У животных под наркозом (6% хлоралгидрат 0,8–1 мл) вызывали 10-минутную остановку сердца путем внутриторакального пережатия сосудистого пучка сердца [31, 32]. Реанимационные мероприятия включали в себя непрямой массаж сердца в сочетании с искусственной вентиляцией легких воздухом в режиме гипервентиляции аппаратом «Animal Respirator» фирмы «SMT Geratehandel» с внутритрахеальным введением раствора адреналина в дозе 0,1 мг/кг. 9-ти крысам вводили раствор 4,2% LiCl за 1 час до остановки сердца (40 мг/кг внутривентрикулярно), на 1-е и на 2-е сутки после реанимации (по 20 мг/кг в/б, соответственно). 9 нелеченых животных получали эквивалентные объемы физиологического раствора хлорида натрия на 1-е и 2-е сутки после реанимации. Контролем служили ложноперированные крысы ($n=10$), которым под наркозом выполняли разрез кожи и ее ушивание без пережатия сосудистого пучка сердца.

tory arrest [25]. It is known that clinical death differs substantially in its pathogenesis and consequences from isolated brain ischemia, first of all, by presence of pathogenic extracerebral factors [26–28], which warrants studying the mechanisms of post-resuscitation brain pathology development on total body ischemia models. Previous investigations have shown that pyramidal cells of hippocampus, which plays an important role in the higher nervous function of the body, are largely exposed to the effects of ischemia-reperfusion after a temporary cardiac arrest [27, 29, 30]. It remains unclear whether lithium lessens the severity of post-resuscitation damage of hippocampal neurons or whether its influence on GSK3 β activity is important.

The purpose of this study was to investigate the efficacy of lithium chloride for the prevention of post-resuscitation death of hippocampal neurons during the post-resuscitation period.

Materials and Methods

Clinical death model. The experiments were carried out in line with the recommendations of the Ethics Committee of Federal State Budgetary Scientific Institution V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, according to the Rules of Carrying Out Work Using Experimental Animals (USSR Health Ministry Order No.755 dated 12.08.1977), on white randombred sexually mature male rats weighing 180–280 g. The animals under anesthesia with 6% chloral hydrate, 0.8–1 ml, were subjected to 10-minute cardiac arrest by intrathoracic compression of vascular fascicle of the heart [31, 32]. Resuscitation measures included closed-chest cardiac massage combined with artificial ventilation of lungs with air in the hyperventilation mode using Animal Respirator apparatus (SMT Geratehandel GmbH, Germany), and intratracheal administration of adrenalin solution at a dose of 0.1 mg/kg. In an experiment, 4.2% LiCl solution was administered into 9 rats intraperitoneally (i.p.) 1 hour before cardiac arrest at a dose of 40 mg/kg and on day 1 and day 2 after resuscitation at a dose of 20 mg/kg each day. Nine untreated animals received equivalent volumes of sodium chloride saline on day 1 and day 2 after resuscitation. Sham-operated rats served as control animals ($n=10$), which were subjected to skin dissection and closure under anesthesia without compression of vascular fascicle of the heart.

Histological analysis. 6–7 days after resuscitation, the animals were pulled out from the experiment by decapitation under anesthesia (chloral hydrate). Brain was removed immediately, its hippocampus-containing segments were isolated and fixed in Carnoy solution during 3.5 hrs., and thereafter embedded in paraffin using standard techniques. For morphometric analysis, 5–6 μ m thick frontal sections (Bregma $-4,2 \pm 0,4$ mm according to Paxinos G. and Watson C. atlas, 1986) were stained with cresyl violet following the Nissl method. From each animal, 2–3 sections were analyzed. On the images of hippocampal sections obtained with the help of light microscope AXIO Imager.A2 and digital camera AxioCamMRc5 (Carl Zeiss, Germany) at $\times 40$, using ImageScopeM software (Systems for Microscopy and Analysis LLC, Russia), the number of normal pyramidal neurons in hippocam-

Гистологическое исследование. Через 6–7 дней после реанимации животных выводили из эксперимента декапитацией под наркозом (хлоралгидрат). Немедленно извлекали мозг, выделяли его сегменты, содержащие гиппокамп, и фиксировали их в растворе Карнуа 3,5 ч и заливали в парафин по стандартной методике. Для морфометрического исследования фронтальные срезы толщиной 5–6 мкм (Bregma $-4,2 \pm 0,4$ мм согласно атласу Paxinos G. and Watson C., 1986), окрашивали крезильным фиолетовым по методу Ниссля. У каждого животного анализировали по 2–3 среза. На изображениях срезов гиппокампа, полученных с помощью светового микроскопа AXIO Imager.A2 и цифровой камеры AxioCamMRC5 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении об. $\times 40$, с использованием программы ImageScoreM (ООО «Системы для микроскопии и анализа», Россия) слепым методом вручную подсчитывали число нормальных пирамидных нейронов в полях CA1 и CA3/CA4 гиппокампа левого полушария (рис. 1). Полученный показатель пересчитывали на 1 мм длины пирамидного слоя гиппокампа. К категории нормальных, сохранивших жизнеспособность, нейронов относили клетки с четко очерченным ядром эллипсоидной или круглой формы и ясно различимым ядрышком, расположенным в центре ядра [33]. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0 с использованием метода ANOVA для множественных сравнений (Post-hoc comparisons of means).

Вестерн-блоттинг анализ. Для оценки содержания белка GSK3 β в ткани мозга выполнили отдельную серию экспериментов. У белых нелинейных половозрелых крысах-самцов (масса 180–280 г) вышеописанным способом вызывали 10-минутную остановку сердца с последующей реанимацией. 5-ти крысам вводили раствор LiCl за 1 час до остановки сердца (40 мг/кг в/б), на 1-е, на 2-е и на 3-и сутки после реанимации (по 20 мг/кг в/б, соответственно). 5 нелеченых животных получали эквивалентные объемы физиологического раствора хлорида натрия на 1–3-и сутки после реанимации. Контролем служили ложнооперированные крысы ($n=5$). Через 7 суток после реанимации крыс выводили из эксперимента, извлекали у них мозг и измельчали его скальпелем в течение 30 секунд. Гомогенат растворяли в буфере, содержащем 0,125 М Трис-HCl (pH 6,8), 4% додецилсульфата натрия (Sigma Chemical Co., США), 20% глицерина, 0,005% бромфенола синего (Sigma Chemical Co., США) и 10% 2 β -меркаптоэтанол (Merck, Германия). Образцы кипятили 2 мин на водяной бане и вносили в 15% Трис-глицериновый полиакриламидный гель в концентрации 50 мг белка на лунку. Электрофорез проводили при постоянном токе 10 мА в режиме концентрирования и 15 мА в режиме разделения. По окончании электрофореза переносили белки на PVDF мембрану (Amersham Pharmacia Biotech, UK). Мембраны блокировали в 5% обезжиренном молоке на 0,1% фосфатном буфере и затем инкубировали с первичными антителами против GSK3 β (mouse monoclonal anti-total-GSK3 β 1:1000, Cell Signaling, USA) или фосфорилированной формы GSK3 β (mouse monoclonal anti-P-GSK3 β 1:1000, Cell Signaling, USA). Затем мембраны инкубировали с вторичными антителами, конъюгированными с перок-

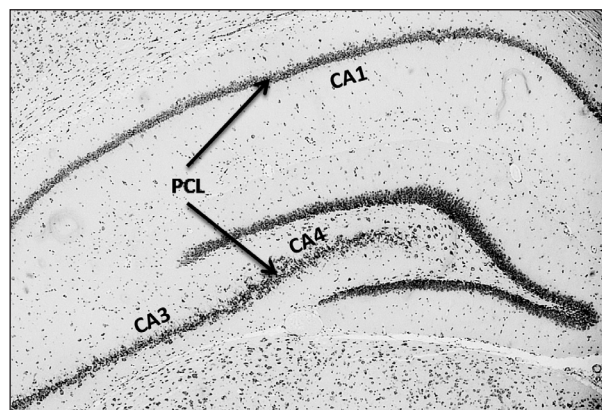


Рис. 1. Микрофотография области гиппокампа.

Fig. 1. Photomicrograph of the hippocampus area.

Note: $\times 4$ (ob.). PCL is the pyramidal cell layer; CA1, CA3, CA4 – hippocampal subfields.

Примечание: Ув. об. $\times 4$. PCL (pyramidal cell layer) – слой пирамидных нейронов. Для рис. 1, 2: CA1, CA3, CA4 – поля гиппокампа.

pus fields CA1 and CA3/CA4 of the left hemisphere were counted manually in blind design conditions (fig. 1). The figure obtained was reduced to 1 mm of the length of hippocampal pyramidal layer. The category of normal, still viable neurons included cells with a sharply margined nucleus of ellipsoidal or round shape and a distinct karyosome located in the nucleus center [33]. Statistical processing of the data was carried out by Statistica 7.0 software pack using ANOVA post-hoc comparisons of means.

Western blotting analysis. To evaluate the content of GSK3 β in brain tissue, a separate series of experiments were carried out. Ten-minute cardiac arrest followed by resuscitation of rats was performed as described in Materials and Methods. In five rats, 4.2% LiCl solution was administered 1 hour before the cardiac arrest (40 mg/kg i.p.), on days 1, 2, and 3 after resuscitation (20 mg/kg i.p. each day). Five untreated animals received equivalent volumes of sodium chloride saline on days 1–3 after resuscitation. Sham operated rats ($n=5$) served as a control. Seven days after resuscitation, the rats were pulled out from the experiment, their brains were removed and minced with a scalpel during 30 seconds. The homogenate was dissolved in a buffer containing 0.125 M Tris-HCl (pH 6.8), 4% sodium dodecyl sulfate (Sigma Chemical Co., USA), 20% glycerol, 0.005% bromophenol blue (Sigma Chemical Co., USA), and 10% 2 β -mercaptoethanol (Merck, Germany). The specimens were boiled for 2 min in water bath and added into 15% Tris-glycerol polyacrylamide gel in a concentration of 50 mg of protein per well. Electrophoresis was carried out at direct current of 10 mA in the concentration mode and 15 mA in the separation mode. Upon completion of electrophoresis, proteins were transferred onto a PVDF membrane (Amersham Pharmacia Biotech, UK). Membranes were blocked in 5% defatted milk on 0.1% phosphate buffer and thereafter incubated with mouse monoclonal anti-total-GSK3 β 1:1000 (Cell Signaling, USA) or mouse monoclonal anti-P-GSK3 β 1:1000, (Cell Signaling, USA). After that, the membranes were incubated with secondary antibodies conjugated with horseradish peroxidase (Calbiochem,

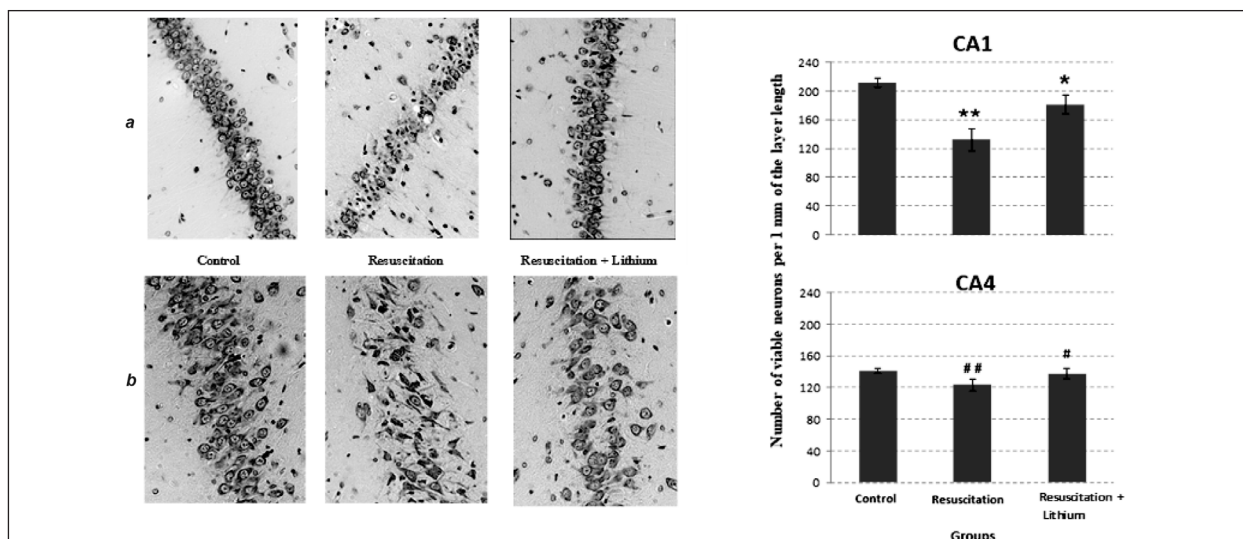


Рис. 2. Снижение плотности жизнеспособных нейронов в полях CA1 (a) и CA4 (b) гиппокампа в постреанимационном периоде.

Fig. 2. Decrease in viable neurons density in CA1 (a) and CA4 (b) hippocampal fields in the post-resuscitation period.

Note. Micrographs of hippocampus histological sections. Nissl staining. $\times 40$ (ob.). The neuronal density in the study groups, $M \pm m$. For fig. 2, 3: Control – a sham surgery rats ($n=10$); Resuscitation – resuscitated untreated rats ($n=9$); Resuscitation + Lithium – resuscitated rats with lithium treatment ($n=9$); Groups – группы. ** – $P < 0.001$ vs. the Control; * – $P \leq 0.01$ vs. Resuscitation; # – $P < 0.05$ vs. the Control; ## – $P \leq 0.1$ vs. Resuscitation.

Примечание. Микрофотографии гистологических срезов гиппокампа. Окраска по Нисслю. Ув. об. $\times 40$. Плотность нейронов в исследуемых группах, $M \pm m$. Для рис. 2, 3: Control – ложно оперированные крысы ($n=10$), Resuscitation – реанимированные нелеченные крысы ($n=9$), Resuscitation + Lithium – реанимированные крысы с введением лития ($n=9$). Groups – группы. ** – $p < 0,001$ в сравнении с контролем; * – $p \leq 0,01$ в сравнении с нелечеными реанимированными животными. ## – $p < 0,05$ в сравнении с контролем; # – $p \leq 0,1$ в сравнении с нелечеными реанимированными животными.

сидазой хрена (Calbiochem, USA), в разведении 1:10000. Детекцию связанных антител проводили с помощью хемилюминесцентного субстрата пероксидазы хрена ECL (Enhanced chemiluminescence system, Amersham Pharmacia Biotech, UK). Хемилюминесценция детектировалась на фотопленку. Отсканированные изображения анализировали с помощью программы ImageJ (NIH, Bethesda, MD, USA). Интенсивность сигнала белка P-GSK3 β нормализовали к интенсивности общего белка GSK3 β для каждой полосы. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0 с использованием U-теста Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Гистологическое исследование показало, что через 7 суток после 10-минутной остановки сердца происходит снижение числа жизнеспособных нейронов у нелеченых реанимированных животных в сравнении с группой ложнооперированных крыс — в поле CA1 гиппокампа — на 37,55% ($p=0,0007$) (рис. 2, a). В поле CA3/CA4 ишемия-реперфузия приводила к менее выраженному повреждению по сравнению с полем CA1 — число жизнеспособных нейронов было уменьшено на 12,9% ($p=0,04$) в сравнении с ложнооперированными (рис. 2, b).

В группе реанимированных крыс с введением хлорида лития обнаружили незначительное снижение числа жизнеспособных нейронов в поле CA1 по сравнению с ложнооперирован-

USA), 1:10000. Bound antibodies were detected with the help of horseradish peroxidase chemiluminescent substrate — ECL (Enhanced chemiluminescence system, Amersham Pharmacia Biotech, UK). Chemiluminescence was recorded on a photo film. Scanned images were analyzed using ImageJ software (NIH, Bethesda, MD, USA). The intensity of P-GSK3 β protein signal was normalized to the intensity of GSK3 β total protein for each band. Statistical processing of the data was carried out by Statistica 7.0 software using Mann-Whitney U-test.

Results and Discussion

Histological analysis has shown that seven days after a 10-minute cardiac arrest there is a decrease in the number of viable neurons in untreated resuscitated animals compared to the group of sham operated rats — in hippocampal field CA1 — by 37.55% ($P=0.0007$) (fig. 2, a). In field CA3/CA4, ischemia-reperfusion led to a less severe damage than in field CA1: the number of viable neurons was reduced by 12.9% ($P=0.04$) compared to sham operated animals (fig. 2, b).

In the group of resuscitated rats with lithium chloride administration, a non-significant tendency to a minor decrease of the number of viable neurons in field CA1 versus sham operated animals was found ($P=0.07$) (fig. 2, a). At the same time, in the treated vs. untreated animals, the number of viable neurons was significantly increased in a field CA1 by 37.0% ($P=0.008$) (fig. 2, a). In hippocampal fields CA3/CA4, there were no difference in the

ными животными. Однако это отличие было недостоверным ($p=0,07$) (рис. 2, *a*). При этом у леченых животных в сравнении с нелечеными число жизнеспособных нейронов было повышено в поле CA1 — на 37,0% ($p=0,008$) (рис. 2, *a*). В поле CA3/CA4 гиппокампа не выявили отличий по числу жизнеспособных нейронов между контрольной группой и группой леченых реанимированных крыс ($p=0,62$) (рис. 2, *b*). У леченых животных отмечали повышение этого показателя, по сравнению с нелечеными крысами, на 11,5% ($p=0,1$) (рис. 2, *b*).

Таким образом, применение хлорида лития позволило предупредить повреждение и гибель пирамидных нейронов гиппокампа в постреанимационном периоде.

Исследование содержания белка GSK3 β в ткани головного мозга крыс, перенесших временную остановку сердца, методом вестерн-блоттинга показало, что реанимированные животные без лечения не отличались от ложнооперированных по этому показателю. Установили, что в группе реанимированных животных с введением хлорида лития содержание фосфорилированной формы GSK3 β было выше на 180% ($p<0,05$) по сравнению с ложнооперированными и на 150% ($p<0,05$) выше по сравнению с нелечеными реанимированными крысами (таблица, рис. 3).

Таким образом, введение хлорида лития в постреанимационном периоде приводило к повышению содержания фосфорилированной формы фермента GSK3 β .

Полученные нами данные согласуются с результатами других экспериментальных исследований, свидетельствующих о нейропротективных свойствах ионов лития [34, 35]. Так, на модели временной окклюзии средней мозговой артерии у мышей было показано, что введение хлорида лития (в/б в дозе 1 мг/кг через 6 часов после реперфузии и ежедневно в течение 7 сут в/б в дозе 2 мг/кг), приводит к уменьшению зоны инфаркта, уменьшению отека головного мозга, а также к ускорению неврологического восстановления [35]. Авторы отмечают, что нейропротективный эффект лития сохранялся до 56 дней после ишемии, о чем свидетельствует повышение плотности выживших нейронов в стриатуме у мышей с введением хлорида лития. На модели инсульта (МКАО) у крыс было показано, что инъекция лития (ежедневно через 24 ч после ишемии-

number of viable neurons between the control group and the group of treated resuscitated rats ($P=0.62$) (fig. 2, *b*). In the treated animals, this feature had a trend for a slight increase by 11.5% compared to untreated rats ($P=0.1$) (fig. 2, *b*).

Hence, use of lithium chloride has allowed preventing damage and death of pyramidal neurons of hippocampus during the post-resuscitation period.

Western blotting assay of protein GSK3 β content in the brain tissue of rats subjected to a temporary cardiac arrest has shown that resuscitated animals that had not received treatment did not differ from sham operated animals. It has been established that in the group of resuscitated animals to which lithium chloride was administered, the content of phosphorylated GSK3 β was 180% higher ($P<0.05$) versus sham operated animals and 150% higher ($P<0.05$) versus the untreated resuscitated rats (fig. 3).

Thereby, administration of lithium chloride during the post-resuscitation period resulted in increased content of the phosphorylated form of enzyme GSK3 β .

The data presented here agree with the results of other experimental studies evidencing neuroprotective properties of lithium ions [34, 35]. On the model of temporary occlusion of medial cerebral

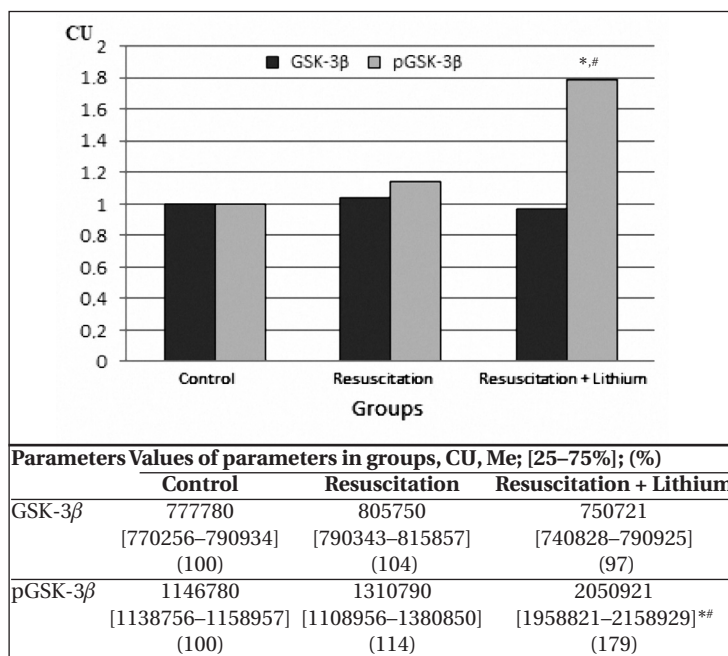


Рис. 3. Денситометрический анализ Вестерн блотов белка ГСК-3 β и его фосфорилированной формы.

Fig. 3. Densitometric analysis of Western blots of GSK-3 β protein and its phosphorylated form.

Note: CU – chemiluminescence conventional units. * – $P<0.05$ vs. Control; # – $P<0.05$ vs. Resuscitation + Lithium.

Примечание: CU – условные единицы хемилюминесценции. GSK-3 β – ГСК-3 β ; pGSK-3 β – фГСК-3 β . Parameters – параметры; Values of ... in – значения ... в. * – $p<0,05$ в сравнении с контрольной группой; # – $p<0,05$ в сравнении с группой реанимированных нелеченных животных.

реперфузии и в течение 1 недели в/б в дозе 40 и 60 мг/кг) приводила к существенному уменьшению выраженности повреждения нейронов, предотвращала нарушения поведения [36].

Однако, как было показано на модели глутаматного стресса в культурах зернистых нейронов мозжечка, гораздо более выраженным нейропротективным действием обладают органические соли лития, в частности, цитрат лития. Полагают, что анионы эндогенных органических кислот, такие как аскорбат, цитрат лития и др. способствуют более эффективному транспорту ионов лития внутрь нейронов посредством соответствующих ионных каналов для транспорта органических кислот [37].

Результаты настоящего исследования показали, что хроническое введение хлорида лития предупреждает гибель пирамидных нейронов гиппокампа в постреанимационном периоде, что может быть обусловлено инактивацией фермента GSK3 β , о чем свидетельствует повышение содержание фосфорилированной формы этого белка в ткани мозга реанимированных животных с введением лития. Полученные нами данные подтверждаются и другими исследованиями. В частности, на модели геморрагического инсульта было показано, что хлорид лития ингибировал активацию GSK3 β , что сопровождалось уменьшением гибели нейронов, снижением неврологического дефицита у подопытных животных [11].

Защитное действие лития может быть связано с усилением процессов ангио- и нейrogenеза, улучшением аксональной пластичности, снижением инфильтрации лейкоцитов и активации микроглии в головном мозге [35, 38]. На молекулярном уровне нейротрофический эффект лития может быть обусловлен снижением уровня оксидативного стресса и провоспалительных цитокинов [36], инактивацией NMDA (N-метил-D-аспартат)-рецепторов, снижением внутриклеточного уровня ионов кальция [39], даун-регуляции (down-regulation) проапоптотической активности, за счет снижения продукции белков p53, Bax, каспазы, бета-амилоидного пептида, высвобождение цитохрома c, активацией PI3K/AKT сигнального пути, отвечающего за выживание клеток [40]. Кроме того, литий приводит к повышению выработки цитопротективных белков Bcl-2, HSP70 (белок теплового шока), BDNF (мозговой нейротрофический фактор), GRP78 (глюкозо-регулируемый белок) [36, 37, 41].

Таким образом, полученные нами данные подтверждают нейропротективные свойства лития. В настоящее время в литературе широко обсуждаются перспективы клинического

artery in mice, it has been shown that i.p. administration of lithium chloride a dose of 1 mg/kg 6 hours after reperfusion and every day during 7 days at a dose of 2 mg/kg, leads to lessening of the infarction area, brain edema and acceleration of neurological restoration [35]. The authors note that the neuroprotective effect of lithium was maintained for up to 56 days after ischemia, as evidenced by increased density of survived neurons in striatum of mice to which lithium chloride had been administered. Using the stroke model (MSAO) in rats, it was shown that lithium i.p. injection every day after 24 hrs from ischemia-reperfusion and during 1 week at a dose of 40 mg/kg and 60 mg/kg led to considerable lessening of neuron damage severity and prevented behavioral disorder [36].

However, as was shown in a model of glutamate stress in the cultures of granular neurons of cerebellum, organic lithium salts (particularly, lithium citrate) induced much more significant neuroprotection. Anions of endogenous organic acids, such as ascorbate, lithium citrate, etc. are assumed to promote more effective transport of lithium ions into neurons by means of respective ionic channels for organic acids transport [37].

The results of this study have demonstrated that chronic administration of lithium chloride prevents death of pyramidal neurons of hippocampus during the post-resuscitation period, which might be related to inactivation of GSK3 β enzyme as evidenced by the increased content of the phosphorylated form of this protein in the brain tissue of resuscitated animals that received lithium. Our results are supported by previous studies obtained in different experimental model. In a hemorrhagic stroke model, it was shown that lithium chloride inhibited activation of GSK3 β , which was accompanied by a lesser rate of death of neurons and decreased neurological deficit in experimental animals [11].

The protective action of lithium might be connected with intensification of the angiogenesis and neurogenesis processes, improvement of axonal plasticity, reduction of infiltration of leukocytes, and activation of microglial cells in the brain [35, 38]. At the molecular level, the neurotrophic effect of lithium might be related to oxidative stress lessening and reduction of anti-inflammatory cytokines [36], inactivation of NMDA (N-methyl-D-aspartate)-receptors, decrease of intracellular calcium ions [39], down-regulation of proapoptotic activity thanks to decreased production of proteins p53, Bax, caspase, beta-amyloid peptide, release of cytochrome c, activation of PI3K/AKT signaling pathway responsible for cell survival [40]. Besides, lithium leads to increased production of cytoprotective proteins Bcl-2, HSP70 (heat shock protein), BDNF (brain-derived neurotrophic factor), GRP78 (glucose-regulated protein) [36, 37, 41].

применения лития для лечения нейродегенеративных заболеваний [15, 18, 42].

Заключение

Установили, что хлорид лития обладает выраженным нейропротективным действием, которое проявляется в сохранении жизнеспособности пирамидных нейронов полей CA1 и CA3/CA4 гиппокампа в постреанимационном периоде после остановки сердца, что может быть обусловлено ингибированием белка GSK3 β путем его фосфорилирования.

Полученные результаты указывают на высокий потенциал лития для его использования в клинической практике в качестве терапевтического препарата для профилактики и лечения постишемических энцефалопатий.

Литература

- Baldessarini R.J., Tondo L., Davis P., Pompili M., Goodwin F.K., Hennen J. Decreased risk of suicides and attempts during long-term lithium treatment: a meta-analytic review. *Bipolar Disord.* 2006; 8: 625–629. DOI:10.1111/j.1399-5618.2006.00344.x PMID:17042835
- Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Янкаускас С.С., Зоров С.Д., Бабенко В.А., Скулачев М.В., Зоров Д.Б. Соли лития – простые, но магические (обзор). *Биохимия.* 2014; 79 (8): 932–943. DOI: 10.1134/S0006297914080021
- Lan C.-C., Liu C.-C., Lin C.-H., Lan T.-Y., McInnis M.G., Chan C.-H., Lan T.-H. A reduced risk of stroke with lithium exposure in bipolar disorder: a population-based retrospective cohort study. *Bipolar Disord.* 2015; 17: 705–714. DOI: 10.1111/bdi.12336
- Bosche B., Molcanyi M., Rej S., Doeppner T.R., Obermann M., Müller D.J., Das A., Hescheler J., Macdonald R.L., Noll T., Härtel F.V. Low-dose lithium stabilizes human endothelial barrier by decreasing mlc phosphorylation and universally augments cholinergic vasorelaxation capacity in a direct manner. *Front Physiol.* 2016; 7: 593. DOI: 10.3389/fphys.2016.00593.
- Chuang D.M., Chen R.W., Chalecka-Franaszek E., Ren M., Hashimoto R., Senatorov V., Kanai H., Hough C., Hiroi T., Leeds P. Neuroprotective effects of lithium in cultured cells and animal models of diseases. *Bipolar Disord.* 2002; 4: 129–136. PMID:12071510
- Cimarosti H., Rodnight R., Tavares A., Paiva R., Valentim L., Rocha E., Salbego C. An investigation of the neuroprotective effect of lithium in organotypic slice cultures of rat hippocampus exposed to oxygen and glucose deprivation. *Neurosci Lett.* 2001; 315 (1-2): 33–36. PMID:11711208
- Xu J., Culman J., Blume A., Brecht S., Gohlke P. Chronic treatment with a low dose of lithium protects the brain against ischemic injury by reducing apoptotic death. *Stroke.* 2003; 34 (5): 1287–1292. PMID:12677021 DOI:10.1161/01.STR.0000066308.25088.64
- Xu X.H., Zhang H.L., Han R., Gu Z.L., Qin Z.H. Enhancement of neuroprotection and heat shock protein induction by combined prostaglandin A1 and lithium in rodent models of focal ischemia. *Brain Res.* 2006; 1102 (1): 154–162. DOI:10.1016/j.brainres.2006.04.111 PMID:16797496.
- Ren M., Senatorov V.V., Chen R.W., Chuang D.M. Postinsult treatment with lithium reduces brain damage and facilitates neurological recovery in a rat ischemia/reperfusion model. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100 (10): 6210–6215. DOI:10.1073/pnas.0937423100. PMID:12732732 PMCID: PMC156351
- Yan X.B., Wang S.S., Hou H.L., Ji R., Zhou J.N. Lithium improves the behavioral disorder in rats subjected to transient global cerebral ischemia. *Behav Brain Res.* 2007; 27; 177 (2): 282–9. DOI:10.1016/j.bbr.2006.11.021 PMID:17210190
- Liu Z., Li R., Jiang C., Zhao S., Li W., Tang X. The neuroprotective effect of lithium chloride on cognitive impairment through glycogen synthase kinase-3 β inhibition in intracerebral hemorrhage rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2018; 840: 50–59. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.10.019.
- Kerr F., Bjedov I., Sofola-Adesakin O. Molecular mechanisms of lithium action: switching the light on multiple targets for dementia using animal models. *Frontiers in Molecular Neuroscience.* 2018; 11: № 297. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00297
- Mohammadianinejad S.E., Majdinasab N., Sajedi S.A., Abdollahi F., Moqaddam M., Sadr F. The effect of lithium in post-stroke motor recovery: A double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Clin. Neuropharmacol.* 2014; 37: 73–78. DOI: 10.1097/WNF.000000000000028. PMID:24824661
- Sun Y.R., Herrmann N., Scott C.J.M., Black S.E., Swartz R.H., Hopyan J., Lanctôt K.L. Lithium carbonate in a poststroke population: explo-

Therefore, the obtained data prove the neuroprotective properties of lithium. Currently, the prospects of clinical application of lithium for neurodegenerative diseases are widely discussed [15, 18, 42].

Conclusion

It has been established that lithium chloride features a prominent neuroprotective action that manifests in maintaining viability of pyramidal neurons in fields CA1 and CA3/CA4 of hippocampus during the post-resuscitation period after a cardiac arrest, which might be related to inhibition of GSK3 β protein through its phosphorylation.

The results we obtained demonstrate a high potential of lithium for its employment in clinical practice as a therapeutic aid for prophylaxis and treatment of post-ischemic encephalopathies.

References

- Baldessarini R.J., Tondo L., Davis P., Pompili M., Goodwin F.K., Hennen J. Decreased risk of suicides and attempts during long-term lithium treatment: a meta-analytic review. *Bipolar Disord.* 2006; 8: 625–629. DOI:10.1111/j.1399-5618.2006.00344.x PMID:17042835
- Plotnikov E.Y., Silachev D.N., Zorova L.D., Pevzner I.B., Jankauskas S.S., Zorov S.D., Babenko V.A., Skulachev M.V., Zorov D.B. Lithium salts – simple but magic (review). *Biochemistry (Moscow).* 2014; 79 (8): 932–943. DOI: 10.1134/S0006297914080021 [In Russ]
- Lan C.-C., Liu C.-C., Lin C.-H., Lan T.-Y., McInnis M.G., Chan C.-H., Lan T.-H. A reduced risk of stroke with lithium exposure in bipolar disorder: a population-based retrospective cohort study. *Bipolar Disord.* 2015; 17: 705–714. DOI: 10.1111/bdi.12336
- Bosche B., Molcanyi M., Rej S., Doeppner T.R., Obermann M., Müller D.J., Das A., Hescheler J., Macdonald R.L., Noll T., Härtel F.V. Low-dose lithium stabilizes human endothelial barrier by decreasing mlc phosphorylation and universally augments cholinergic vasorelaxation capacity in a direct manner. *Front Physiol.* 2016; 7: 593. DOI: 10.3389/fphys.2016.00593.
- Chuang D.M., Chen R.W., Chalecka-Franaszek E., Ren M., Hashimoto R., Senatorov V., Kanai H., Hough C., Hiroi T., Leeds P. Neuroprotective effects of lithium in cultured cells and animal models of diseases. *Bipolar Disord.* 2002; 4: 129–136. PMID:12071510
- Cimarosti H., Rodnight R., Tavares A., Paiva R., Valentim L., Rocha E., Salbego C. An investigation of the neuroprotective effect of lithium in organotypic slice cultures of rat hippocampus exposed to oxygen and glucose deprivation. *Neurosci Lett.* 2001; 315 (1-2): 33–36. PMID:11711208
- Xu J., Culman J., Blume A., Brecht S., Gohlke P. Chronic treatment with a low dose of lithium protects the brain against ischemic injury by reducing apoptotic death. *Stroke.* 2003; 34 (5): 1287–1292. PMID:12677021 DOI:10.1161/01.STR.0000066308.25088.64
- Xu X.H., Zhang H.L., Han R., Gu Z.L., Qin Z.H. Enhancement of neuroprotection and heat shock protein induction by combined prostaglandin A1 and lithium in rodent models of focal ischemia. *Brain Res.* 2006; 1102 (1): 154–162. DOI:10.1016/j.brainres.2006.04.111 PMID:16797496.
- Ren M., Senatorov V.V., Chen R.W., Chuang D.M. Postinsult treatment with lithium reduces brain damage and facilitates neurological recovery in a rat ischemia/reperfusion model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 (10): 6210–6215. DOI:10.1073/pnas.0937423100. PMID:12732732 PMCID: PMC156351
- Yan X.B., Wang S.S., Hou H.L., Ji R., Zhou J.N. Lithium improves the behavioral disorder in rats subjected to transient global cerebral ischemia. *Behav Brain Res.* 2007; 27; 177 (2): 282–9. DOI:10.1016/j.bbr.2006.11.021 PMID:17210190
- Liu Z., Li R., Jiang C., Zhao S., Li W., Tang X. The neuroprotective effect of lithium chloride on cognitive impairment through glycogen synthase kinase-3 β inhibition in intracerebral hemorrhage rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2018; 840: 50–59. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.10.019.
- Kerr F., Bjedov I., Sofola-Adesakin O. Molecular mechanisms of lithium action: switching the light on multiple targets for dementia using animal models. *Frontiers in Molecular Neuroscience.* 2018; 11: № 297. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00297
- Mohammadianinejad S.E., Majdinasab N., Sajedi S.A., Abdollahi F., Moqaddam M., Sadr F. The effect of lithium in post-stroke motor recovery: A double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Clin. Neuropharmacol.* 2014; 37: 73–78. DOI: 10.1097/WNF.000000000000028. PMID:24824661
- Sun Y.R., Herrmann N., Scott C.J.M., Black S.E., Swartz R.H., Hopyan J., Lanctôt K.L. Lithium carbonate in a poststroke population: explo-

- ratory analyses of neuroanatomical and cognitive outcomes. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2019; 39 (1): 67-71. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000981
15. Hajek T., Weiner M.W. Neuroprotective effects of lithium in human brain? Food for thought. *Current Alzheimer Research*. 2016; 13 (8): 862-872. DOI: 10.2174/1567205013666160219112712
 16. Gerhard T., Devanand D.P., Huang C., Crystal S., Olfson M. Lithium treatment and risk for dementia in adults with bipolar disorder: Population-based cohort study. *British Journal of Psychiatry*. 2015; 207 (1): 46-51. DOI: 10.1192/bjp.bp.114.154047
 17. Matsunaga S., Kishi T., Annas P., Basun H., Hampel H., Iwata N. Lithium as a treatment for alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015; 48 (2): 403-410. DOI: 10.3233/JAD-150437
 18. Vo T.M., Perry P., Ellerby M., Bohnert K. Is lithium a neuroprotective agent? *Annals of Clinical Psychiatry*. 2015; 27 (1): 49-54. PMID:25696782
 19. Nunes M.A., Viel T.A., Buck H.S. Microdose lithium treatment stabilized cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res*. 2013; 10: 104-107. DOI:10.1371/journal.pone.0142267 PMID:26605788 PMCID:PMC4659557
 20. Rajkowska G., Clarke G., Mahajan G., Licht C.M., van de Werd H.J.J.M., Yuan P., Stockmeier C.A., Manji H.K., Uylings H.B.M. Differential effect of lithium on cell number in the hippocampus and prefrontal cortex in adult mice: A stereological study. *Bipolar Disorders*. 2016; 18 (1): 41-51. DOI: 10.1111/bdi.12364
 21. Ferensztajn-Rochowiak E., Rybakowski J.K. The effect of lithium on hematopoietic, mesenchymal and neural stem cells. *Pharmacological Reports*. 2016; 68 (2): 224-230. DOI: 10.1016/j.pharep.2015.09.005
 22. Chuang D.M. Neuroprotective and neurotrophic actions of the mood stabilizer lithium: can it be used to treat neurodegenerative diseases? *Crit. Rev. Neurobiol*. 2004; 16 (1-2): 83-90. PMID:15581403
 23. Васильева А.К., Плотников Е.Ю., Казаченко А.В., Кирпатовский В.И., Зоров Д.Б. Ингибирование GSK-3 β снижает индуцированную ишемией гибель клеток почки. *Бюлл. Эксп. Биол. Мед.* 2010; 149 (3): 276-281.
 24. Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лиханцев В.В. Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии/реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 63-72. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-1-63
 25. Athanasuleas C.L., Buckberg G.D., Allen B.S., Beyersdorf F., Kirsh M.M. Sudden cardiac death: directing the scope of resuscitation towards the heart and brain *Resuscitation*. 2006; 70: 44-51. DOI:10.1016/j.resuscitation.2005.11.017 PMID:16759784
 26. Nolan J.P., Soar J., Cariou A., Cronberg T., Moulaert V.R.M., Deakin Ch.D., Bottiger B.W., Friberg H., Sunde K., Sandroni C. European Resuscitation Council and European Society of Intensive Care Medicine Guidelines for Post-resuscitation Care 2015 Section 5 of the European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015. *Resuscitation*. 2015; 95: 202-222. DOI:10.1016/j.resuscitation.2015.07.018
 27. Sanganalmath S.K., Gopal P., Parker J.R., Downs R.K., Parker J.C. Jr., Dawn B. Global cerebral ischemia due to circulatory arrest: insights into cellular pathophysiology and diagnostic modalities. *Mol. Cell Biochem*. 2017; 426 (1-2): 111-127. DOI: 10.1007/s11010-016-2885-9. PMID:27896594
 28. Неговский В.А., Гурвич А.М., Золотокрылина Е.С. Постреанимационная болезнь. М., Медицина. 1987; 480с.
 29. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Голубев А.М., Голубева Н.В. Роль мозгового нейротрофического фактора BDNF и его рецептора TrkB в устойчивости нейронов гиппокампа к ишемии-реперфузии (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2018; 14(6): 41-50. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-6-41-50
 30. Аврущенко М.Ш., Острова И.В. Постреанимационные изменения экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF): взаимосвязь с процессом гибели нейронов. *Общая реаниматология*. 2017; 13 (4): 6-21. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-4-6-21
 31. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 1982; 3: 78-80. PMID: 7122145.
 32. Kawai K., Nitecka L., Ruetzler C.A., Nagashima G., Joó E., Mies G., Nowak T.S. Jr., Saito N., Lohr J.M., Klatzo I. Global cerebral ischemia associated with cardiac arrest in the rat: I. Dynamics of early neuronal changes. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 1992; 12 (2): 238-249. DOI: 10.1038/jcbfm.1992.34 PMID: 1548296
 33. Iwasaki H., Ohmachi Y., Kume E., Kriegelstein J. Strain differences in vulnerability of hippocampal neurons to transient cerebral ischemia in the rat. *Int. J. Exp. Path.* 1995; 76: 171-178. PMID:7547427 PMCID:PMC1997166
 34. Wang Z.F., Fessler E.B., Chuang D.M. Beneficial effects of mood stabilizers lithium, valproate and lamotrigine in experimental stroke models. *Acta Pharmacol. Sin*. 2011; 32 (12): 1433-1445. DOI: 10.1038/aps.2011.140.
 35. Doeppner T.R., Kaltwasser B., Sanchez-Mendoza E.H., Caglayan A.B., Bahr M., Hermann D.M. Lithium-induced neuroprotection in stroke involves increased miR-124 expression, reduced RE1-silencing trans-
 - ratory analyses of neuroanatomical and cognitive outcomes. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2019; 39 (1): 67-71. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000981
 15. Hajek T., Weiner M.W. Neuroprotective effects of lithium in human brain? Food for thought. *Current Alzheimer Research*. 2016; 13 (8): 862-872. DOI: 10.2174/1567205013666160219112712
 16. Gerhard T., Devanand D.P., Huang C., Crystal S., Olfson M. Lithium treatment and risk for dementia in adults with bipolar disorder: Population-based cohort study. *British Journal of Psychiatry*. 2015; 207 (1): 46-51. DOI: 10.1192/bjp.bp.114.154047
 17. Matsunaga S., Kishi T., Annas P., Basun H., Hampel H., Iwata N. Lithium as a treatment for alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015; 48 (2): 403-410. DOI: 10.3233/JAD-150437
 18. Vo T.M., Perry P., Ellerby M., Bohnert K. Is lithium a neuroprotective agent? *Annals of Clinical Psychiatry*. 2015; 27 (1): 49-54. PMID:25696782
 19. Nunes M.A., Viel T.A., Buck H.S. Microdose lithium treatment stabilized cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res*. 2013; 10: 104-107. DOI:10.1371/journal.pone.0142267 PMID:26605788 PMCID:PMC4659557
 20. Rajkowska G., Clarke G., Mahajan G., Licht C.M., van de Werd H.J.J.M., Yuan P., Stockmeier C.A., Manji H.K., Uylings H.B.M. Differential effect of lithium on cell number in the hippocampus and prefrontal cortex in adult mice: A stereological study. *Bipolar Disorders*. 2016; 18 (1): 41-51. DOI: 10.1111/bdi.12364
 21. Ferensztajn-Rochowiak E., Rybakowski J.K. The effect of lithium on hematopoietic, mesenchymal and neural stem cells. *Pharmacological Reports*. 2016; 68 (2): 224-230. DOI: 10.1016/j.pharep.2015.09.005
 22. Chuang D.M. Neuroprotective and neurotrophic actions of the mood stabilizer lithium: can it be used to treat neurodegenerative diseases? *Crit. Rev. Neurobiol*. 2004; 16 (1-2): 83-90. PMID:15581403
 23. Vasilieva A.K., Plotnikov E.YU., Kazachenko A.V., Kirpatovskij V.I., Zorov D.B. Inhibition of GSK-3 β reduces ischemic-induced kidney cell death. *Biull. Exper. Biol. Med.* 2010; 149 (3): 276-281 [In Russ].
 24. Moroz V.V., Silachev D.N., Plotnikov E.Y., Zorova L.D., Pevzner I.B., Grebenchikov O.A., Likhvantsev V.V. Mechanisms of cell damage and protection in ischemia/reperfusion and experimental rationale for the use of lithium-based preparations in anesthesiology. *Obshchaya reanimatologiya=General Reanimatology*. 2013; 9 (1): 63-72. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-1-63 [In Russ]
 25. Athanasuleas C.L., Buckberg G.D., Allen B.S., Beyersdorf F., Kirsh M.M. Sudden cardiac death: directing the scope of resuscitation towards the heart and brain *Resuscitation*. 2006; 70: 44-51. DOI:10.1016/j.resuscitation.2005.11.017 PMID:16759784
 26. Nolan J.P., Soar J., Cariou A., Cronberg T., Moulaert V.R.M., Deakin Ch.D., Bottiger B.W., Friberg H., Sunde K., Sandroni C. European Resuscitation Council and European Society of Intensive Care Medicine Guidelines for Post-resuscitation Care 2015 Section 5 of the European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015. *Resuscitation*. 2015; 95: 202-222. DOI:10.1016/j.resuscitation.2015.07.018
 27. Sanganalmath S.K., Gopal P., Parker J.R., Downs R.K., Parker J.C. Jr., Dawn B. Global cerebral ischemia due to circulatory arrest: insights into cellular pathophysiology and diagnostic modalities. *Mol. Cell Biochem*. 2017; 426 (1-2): 111-127. DOI: 10.1007/s11010-016-2885-9. PMID:27896594
 28. Negovski V.A., Gurvich A.M., Zolotokrylina E.S. Postresuscitation disease. M., Medicine. 1987; 480p. [In Russ.]
 29. Ostrova I.V., Avrushchenko M.S., Golubev A.M., Golubeva N.V. The Contribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its TrkB receptor to hippocampal neuron resistance to ischemia-reperfusion (experimental study). *Obshchaya reanimatologiya=General Reanimatology*. 2018; 14 (6): 41-50. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-6-41-50 [In Russ., In Engl.]
 30. Avrushchenko M.S., Ostrova I.V. Postresuscitative Changes of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Protein Expression: Association With Neuronal Death. *Obshchaya reanimatologiya=General Reanimatology*. 2017; 13 (4): 6-21. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-4-6-21 [In Russ., In Engl.]
 31. Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tel L.Z. Modelirovanie klinicheskoi smerti i postreanimatsionnoi bolezni u kryss. [Modeling clinical death and postresuscitation disease in rats]. *Patologicheskaya Fiziologiya I Eksperimentalnaya Terapiya*. 1982; 3: 78-80. PMID: 7122145. [In Russ.]
 32. Kawai K., Nitecka L., Ruetzler C.A., Nagashima G., Joó E., Mies G., Nowak T.S. Jr., Saito N., Lohr J.M., Klatzo I. Global cerebral ischemia associated with cardiac arrest in the rat: I. Dynamics of early neuronal changes. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 1992; 12 (2): 238-249. DOI: 10.1038/jcbfm.1992.34 PMID: 1548296
 33. Iwasaki H., Ohmachi Y., Kume E., Kriegelstein J. Strain differences in vulnerability of hippocampal neurons to transient cerebral ischemia in the rat. *Int. J. Exp. Path.* 1995; 76: 171-178. PMID:7547427 PMCID:PMC1997166
 34. Wang Z.F., Fessler E.B., Chuang D.M. Beneficial effects of mood stabilizers lithium, valproate and lamotrigine in experimental stroke models. *Acta Pharmacol. Sin*. 2011; 32 (12): 1433-1445. DOI: 10.1038/aps.2011.140.
 35. Doeppner T.R., Kaltwasser B., Sanchez-Mendoza E.H., Caglayan A.B., Bahr M., Hermann D.M. Lithium-induced neuroprotection in stroke

- cription factor abundance and decreased protein deubiquitination by GSK3b inhibition-independent pathways. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2017; 37 (3): 914–926. DOI: 10.1177/0271678X16647738
36. Taliyan R., Ramagiri S. Delayed neuroprotection against cerebral ischemia reperfusion injury: putative role of BDNF and GSK-3 β . *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 2016; 36 (4): 402–410. DOI: 10.3109/10799893.2015.1108338.
 37. Пронин А.В., Громова О.А., Торшин И.Ю., Стельмашук Е.В., Александрова О.П., Генрихс Е.Е., Хаспеков Л.Г. О нейропротективных свойствах солей лития в условиях глутаматного стресса *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017; 9(3): 111–119. DOI: 10.14412/2074-2711-2017-3-111-119
 38. Rom S., Fan Sh., Reichenbach N., Dykstra H., Ramirez S.H., Persidsky Y. Glycogen synthase kinase 3 inhibition prevents monocyte migration across brain endothelial cells via Rac1-GTPase suppression and down-regulation of active integrin conformation. *Am. J. Pathol.* 2012; 181: 1414–1425. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.06.018
 39. Malhi G.S., Tanious M., Das P., Coulston C.M., Berk M. Potential mechanisms of action of lithium in bipolar disorder. Current understanding. *CNS Drugs*. 2013; 27: 135–153. DOI: 10.1007/s40263-013-0039-0 PMID: 23371914
 40. Chiu C.T., Chuang, D.M. Molecular actions and therapeutic potential of lithium in preclinical and clinical studies of CNS disorders. *Pharmacol. Ther.* 2010; 128: 281–304. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2010.07.006 PMID: 20705090 PMCID: PMC3167234
 41. Fan M., Jin W., Zhao H., Xiao Y., Jia Y., Yin Y., Jiang X., Xu J., Meng N., Lv P. Lithium chloride administration prevents spatial learning and memory impairment in repeated cerebral ischemia-reperfusion mice by depressing apoptosis and increasing BDNF expression in hippocampus. *Behav Brain Res.* 2015; 291: 399–406. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.05.047. PMID:26031381
 42. Rybakowski, J.K., Suwalska, A., Hajek, T. Clinical perspectives of lithium's neuroprotective effect. *Pharmacopsychiatry*. 2017; 51 (5): 194–199. DOI: 10.1055/s-0043-124436
- involves increased miR-124 expression, reduced RE1-silencing transcription factor abundance and decreased protein deubiquitination by GSK3b inhibition-independent pathways. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2017; 37 (3): 914–926. DOI: 10.1177/0271678X16647738
36. Taliyan R., Ramagiri S. Delayed neuroprotection against cerebral ischemia reperfusion injury: putative role of BDNF and GSK-3 β . *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 2016; 36 (4): 402–410. DOI: 10.3109/10799893.2015.1108338.
 37. Pronin A.V., Gromova O.A., Torshin I.Yu., Stelmashuk E.V., Aleksandrova O.P., Genrikhs E.E., Khaspekov L.G. Neuroprotective properties of lithium salts during glutamate-induced stress. *Neurologiya, neiro-psikhiatriya, psikhosomatika*. 2017; 9 (3): 111–119. DOI: 10.14412/2074-2711-2017-3-111-119 [In Russ.]
 38. Rom S., Fan Sh., Reichenbach N., Dykstra H., Ramirez S.H., Persidsky Y. Glycogen synthase kinase 3 inhibition prevents monocyte migration across brain endothelial cells via Rac1-GTPase suppression and down-regulation of active integrin conformation. *Am. J. Pathol.* 2012; 181: 1414–1425. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.06.018
 39. Malhi G.S., Tanious M., Das P., Coulston C.M., Berk M. Potential mechanisms of action of lithium in bipolar disorder. Current understanding. *CNS Drugs*. 2013; 27: 135–153. DOI: 10.1007/s40263-013-0039-0 PMID: 23371914
 40. Chiu C.T., Chuang, D.M. Molecular actions and therapeutic potential of lithium in preclinical and clinical studies of CNS disorders. *Pharmacol. Ther.* 2010; 128: 281–304. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2010.07.006 PMID: 20705090 PMCID: PMC3167234
 41. Fan M., Jin W., Zhao H., Xiao Y., Jia Y., Yin Y., Jiang X., Xu J., Meng N., Lv P. Lithium chloride administration prevents spatial learning and memory impairment in repeated cerebral ischemia-reperfusion mice by depressing apoptosis and increasing BDNF expression in hippocampus. *Behav Brain Res.* 2015; 291: 399–406. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.05.047. PMID:26031381
 42. Rybakowski, J.K., Suwalska, A., Hajek, T. Clinical perspectives of lithium's neuroprotective effect. *Pharmacopsychiatry*. 2017; 51 (5): 194–199. DOI: 10.1055/s-0043-124436

Поступила 04.04.19

Received 04.04.19

Диссертации на соискание ученой степени доктора наук без опубликования основных научных результатов в ведущих журналах и изданиях, перечень которых утвержден Высшей аттестационной комиссией, будут отклонены в связи с нарушением п. 10 Положения о порядке присуждения ученых степеней.

Перечень журналов ВАК, издаваемых в Российской Федерации по специальности 14.01.20 «Анестезиология и реаниматология», в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата медицинских наук:

- *Анестезиология и реаниматология;*
- *Общая реаниматология.*