

Совместное применение ишемического посткондиционирования и цитиколина при ишемии-реперфузии головного мозга у монгольских песчанок

Н.С. Щербак^{1,2}, М.М. Галагудза^{1,2}, Л.Б. Митрофанова²,
Е.Р. Баранцевич^{1,2}, Е.В. Шляхто^{1,2}

¹ ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова», Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Щербак Н.С. — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института сердечно-сосудистых заболеваний ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова), ведущий научный сотрудник лаборатории нанотехнологий ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова); Галагудза М.М. — доктор медицинских наук, руководитель Института экспериментальной медицины ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова, профессор кафедры патофизиологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; Митрофанова Л.Б. — доктор медицинских наук, заведующая лабораторией патоморфологии ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова; Баранцевич Е.Р. — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии и мануальной медицины ФПО СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, заведующий научно-исследовательским отделом ангионеврологии ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова; Шляхто Е.В. — доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова, заведующий кафедрой факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Контактная информация: ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341. E-mail: ShcherbakNS@yandex.ru (Щербак Наталия Сергеевна).

Резюме

Актуальность. Ишемическое посткондиционирование (ИПостК) — это феномен уменьшения объема инфаркта в результате выполнения серии коротких ишемических стимулов в начале реперфузии головного мозга после периода пролонгированной ишемии. Механизмы реализации нейропротективного эффекта ИПостК остаются малоизученными; кроме того, не исследованы эффекты совместного применения фармакологических нейропротекторов и ИПостК, что не позволяет внедрять ИПостК в клиническую практику в рамках трансляционной медицины. **Цель исследования** — изучить нейропротективный эффект ИПостК и нейропротектора цитиколина, а также эффект их совместного применения при ишемическом и реперфузионном повреждении головного мозга в эксперименте. **Материалы и методы.** Обратимую глобальную ишемию головного мозга моделировали двусторонней окклюзией общих сонных артерий у монгольских песчанок в течение 7 минут. ИПостК было индуцировано тремя 15-секундными эпизодами реперфузии/реокклюзии. Цитиколин вводили внутривенно в дозе 500 мг/кг через 2 минуты после начала ишемии. В отдельной серии экспериментов использовали совместное применение ИПостК и цитиколина. Оценивали количество жизнеспособных нейронов в поле СА1 гиппокампа. **Результаты.** В экспериментальных группах с применением ИПостК, введением цитиколина в дозе 500 мг/кг, а также при их сочетанном использовании наблюдалось значимое ($p < 0,05$) увеличение числа жизнеспособных пирамидных нейронов в поле СА1 гиппокампа при сравнении с группой животных, перенесших обратимую церебральную ишемию. Совместное применение ИПостК и цитиколина не обеспечивало дополнительного увеличения числа жизнеспособных нейронов. **Выводы.** Совместное применение ИПостК и цитиколина приводило к возникновению значимого нейропротективного эффекта, однако его выраженность не отличалась от таковой при раздельном применении указанных воздействий.

Ключевые слова: ишемическое посткондиционирование, головной мозг, цитиколин, ишемия/реперфузия, гиппокамп, песчанки монгольские.

The neuroprotective effect of ischemic postconditioning and citicoline against cerebral ischemia-reperfusion injury in mongolian gerbils

N.S. Shcherbak^{1,2}, M.M. Galagudza^{1,2}, L.B. Mitrofanova²,
E.R. Barantsevich^{1,2}, E.V. Shlyakhto^{1,2}

¹Pavlov St Petersburg State Medical University, St Petersburg, Russia

²Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, St Petersburg, Russia

Corresponding author: Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, 2 Akkuratov st., St Petersburg, Russia, 197341. E-mail: ShcherbakNS@yandex.ru (Natalia S. Shcherbak, PhD of Biology Sciences, Senior Researcher at the Institute of Cardiovascular Diseases at Pavlov St Petersburg State Medical University, the Leading Researcher at the Laboratory of Nanotechnologies at Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre).

Abstract

Background. Ischemic postconditioning (IPostC) — a phenomenon of cerebral infarct volume reduction after a series of short ischemic stimuli in the early reperfusion period after prolonged ischemia. The mechanisms of IPostC remain poorly studied; in addition, the effects of combined application of pharmacological neuroprotection and IPostC are not investigated that precludes the translation of IPostC to the clinical practice. **Objective.** To assess the neuroprotective effect of IPostC and neuroprotective agent citicoline, and the effect of their combined application in the experimental model of global cerebral ischemia-reperfusion. **Materials and methods.** Transient global cerebral ischemia was induced by bilateral occlusion of the common carotid arteries in Mongolian gerbils for 7 minutes. IPostC was induced by three 15-s episodes of reperfusion/reocclusion. Citicoline was administered intraperitoneally at a dose of 500 mg/kg 2 min after the start of ischemia. In a separate series of experiments, the combined application of IPostC and citicoline was used. The number of viable neurons in the CA1 hippocampus was used as an end-point of neuroprotection. **Results.** In the experimental groups using IPostC, citicoline administration at a dose of 500 mg/kg, as well as their combined use a significant ($p < 0,05$) increase in the number of viable pyramidal neurons in the CA1 hippocampus was observed when compared with control group. The combined use of citicoline and IPostC did not provide an additional increase in the number of viable neurons. **Conclusions.** The combined use of citicoline and IPostC resulted in the expression of a significant neuroprotective phenotype, but its magnitude was not different from that in the groups of isolated citicoline and IPostC use.

Key words: ischemic postconditioning, brain, citicoline, ischemia/reperfusion, hippocampus, Mongolian gerbils.

Статья поступила в редакцию: 26.11.12. и принята к печати: 30.11.12.

Введение

Современные хирургические технологии в сочетании с кардиоанестезиологическим обеспечением позволяют снизить показатели инвалидизации и смертности у пациентов с тяжелой врожденной и приобретенной патологией сердечно-сосудистой системы. Тем не менее церебральные осложнения при операциях с применением экстракорпорального кровообращения (ЭКК) продолжают оказывать существенное влияние на качество жизни пациентов и витальный прогноз послеоперационного периода [1]. К механизмам церебральных нарушений при операциях с применением ЭКК относятся микроэмболизация артериального русла головного мозга, системный воспалительный ответ и неадекватная нейропротекция с периоперационной гипоксией. Эти

факторы приводят к послеоперационной гипоксической энцефалопатии и связанным с ней нарушениям когнитивных функций, представляющим собой серьезную проблему в послеоперационном периоде [2–4]. Применение общепринятых методов защиты головного мозга от повреждающего действия ишемии-реперфузии в ряде случаев оказывается неэффективным. В связи с этим поиск новых способов защиты головного мозга от ишемического и реперфузионного повреждения является актуальной задачей, решение которой позволит снизить частоту возникновения неврологических и когнитивных нарушений в раннем и отдаленном послеоперационном периоде. К настоящему времени в экспериментальных работах показано, что нейропротективными эффектами обладают более 1000 различных субстанций.

При этом ни одно из этих соединений не оказало выраженного защитного действия в рандомизированных, плацебо-контролируемых клинических исследованиях, проведенных с использованием принципов доказательной медицины [5, 6].

Одним из перспективных способов защиты головного мозга от ишемического и реперфузионного повреждения является ишемическое посткондиционирование (ИПостК). ИПостК индуцируется короткими эпизодами ишемии, выполненными в раннем реперфузионном периоде после продолжительного эпизода ишемии нервной ткани, и способствует ограничению повреждения головного мозга путем стимуляции протективных механизмов, заложенных в самом организме в процессе эволюции [7, 8]. Хотя механизмы действия ИПостК еще окончательно не расшифрованы, существуют данные о том, что применение ИПостК приводит к значимому уменьшению объема инфаркта за счет ограничения выраженности апоптоза [9] и аутофагии [10] нейронов, ингибирования открытия митохондриальной поры в периоде реперфузии [11] и увеличения экспрессии транспортера глутамата-1 в нейронах [12]. Для эффективного и безопасного использования ИПостК в клинической практике требуется более детальное исследование механизмов данного феномена, а также разработка оптимальных протоколов применения коротких ишемических стимулов в зависимости от пола, возраста и наличия сопутствующей патологии у пациента.

Гипотетически можно ожидать усиления нейропротективного эффекта при одновременном применении нескольких защитных воздействий. Однако исследований, направленных на изучение эффектов совместного применения ИПостК и лекарственных препаратов с нейропротективной активностью, до настоящего времени не проводилось. Одним из наиболее хорошо изученных нейропротекторов, показавших высокую эффективность как в экспериментальных исследованиях, так и в клинической практике, является цитиколин [13, 14]. Цитиколин — единственный препарат, эффективность которого на основании проведенного мета-анализа отмечена в Европейских рекомендациях по ведению больных ишемическим инсультом [6]. Цитиколин был открыт E. Kennedy в 1956 году как эндогенное соединение, являющееся посредником в биосинтезе фосфатидилхолина, который является ключевым фосфолипидом клеточных мембран [15]. Исследования последних лет показали, что цитиколин участвует в стабилизации мембран, способствует синтезу нуклеиновых кислот, белков, ацетилхолина, а также других нейромедиаторов, снижает образование свободных

радикалов, окисление жирных кислот, обладает противовоспалительным и антиапоптотическим действием [14, 16].

Цель исследования

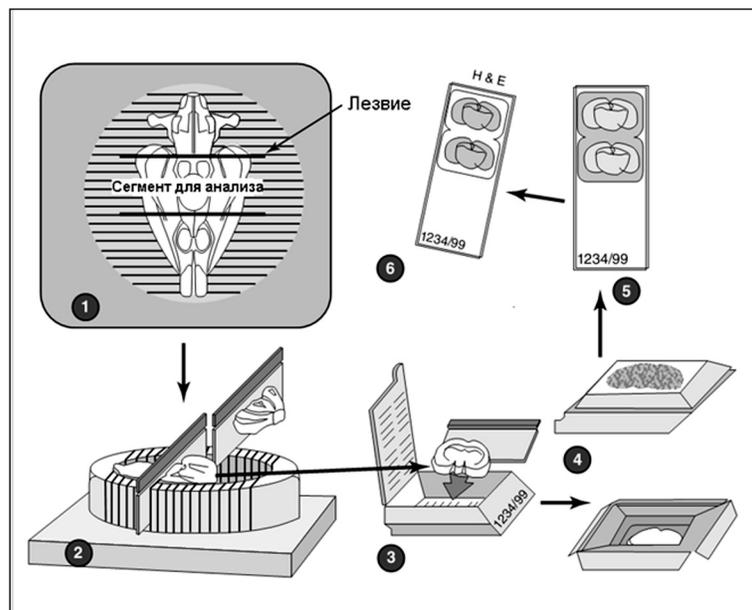
Данное исследование было направлено на изучение нейропротективного эффекта ИПостК и нейропротектора цитиколина, а также эффекта их совместного применения при ишемическом и реперфузионном повреждении головного мозга в эксперименте.

Материалы и методы

Все эксперименты были проведены в соответствии с рекомендациями Этических комитетов ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и ФГБУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова», Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных» (публикация Национального Института Здоровья США № 85–23).

Исследование выполнено на самцах когтистой песчанки (*Meriones unguiculatus*) массой 60–80 г, наркотизированных хлоралгидратом (450 мг/кг, внутривенно). Обратимую глобальную ишемию головного мозга моделировали двусторонней окклюзией общих сонных артерий на 7 минут с последующей реперфузией в течение 48 часов. Протокол ИПостК включал 3 эпизода реперфузии-ишемии по 15/15 секунд, выполненных непосредственно после завершения 7-минутной ишемии. Цитиколин (Цераксон, Ferrer Internacional, Испания) вводили внутривенно в дозе 500 мг/кг массы животного через 2 минуты после начала глобальной ишемии. Животные были случайным образом разделены на следующие экспериментальные группы: 1) ложная операция (ЛО, n = 8); 2) ложная операция + плацебо (физиологический раствор) (ЛО + П, n = 7); 3) ишемия-реперфузия (ИР, n = 8); 4) ишемия-реперфузия + ИПостК (ИР + ИПостК, n = 8); 5) ишемия-реперфузия + цитиколин (ИР + Ц, n = 8); 6) ишемия-реперфузия + ИПостК + цитиколин (ИР + ИПостК + Ц, n = 8). В группе ЛО выполнялись все хирургические манипуляции, кроме окклюзии общих сонных артерий. В группе ЛО + П также внутривенно вводили физиологический раствор. Температура тела животных поддерживалась на уровне $37,0 \pm 0,5$ °С. Через 48 часов животных наркотизировали повторно, извлекали головной мозг, выделяли его сегменты, содержащие

Рисунок. Этапы подготовки головного мозга для проведения морфометрического анализа [17]



гиппокампа, фиксировали их в 10%-м нейтральном формалине и заливали в парафин по стандартной методике [17] (рис.). Для морфометрической оценки фронтальные срезы толщиной 5 мкм, соответствующие стереотаксическому атласу монгольской песчанки (bregma 1,5–1,9 мм) [18], окрашивали гематоксилином и эозином. На препаратах под световым микроскопом (Leica, Германия) подсчитывали общую численность нейронов на 1 мм пирамидного слоя зоны СА1 гиппокампа. Учитывались клетки, сохранившие жизнеспособность, то есть содержащие в площади среза ядрышко [19].

Значимость различий между группами оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента с использованием программы «Statistica 6.0». Различия учитывались как значимые при $p < 0,05$.

Результаты

Ишемическое повреждение, моделируемое 7-минутной окклюзией общих сонных артерий, с последующей реперфузией длительностью 48 часов приводило к значимому уменьшению ($p < 0,001$) числа жизнеспособных нейронов пирамидного слоя поля СА1 гиппокампа до 24 % от числа жизнеспособных нейронов, зафиксированного в группах ЛО и ЛО + П (табл.). В зоне СА1 выявлялись гиперхромные нейроны с пикнотическими ядрами. В некоторых нейронах отмечался хроматолитиз и вакуолизация цитоплазмы, наблюдался перичеселлярный отек. Применение трех посткондиционирующих стимулов, выполненных непосредственно после моделирования глобальной ишемии головного мозга, способствовало значимому ($p < 0,01$) увеличению числа жизнеспособных нейронов при

Таблица

КОЛИЧЕСТВО ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ НЕЙРОНОВ В ПОЛЕ СА1 ГИППОКАМПА МОНГОЛЬСКИХ ПЕСЧАНОК В РАЗЛИЧНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГРУППАХ

№	Экспериментальная группа	Количество животных в экспериментальной группе	Количество жизнеспособных нейронов/мм СА1 гиппокампа
1.	ЛО	8	352,3 ± 9,7
2.	ЛО + П	7	348,5 ± 7,4
3.	ИР	8	84,8 ± 11,3*
4.	ИР + ИПостК	8	186,4 ± 10,8**
5.	ИР + Ц	8	157,7 ± 8,4 ^а
6.	ИР + ИПостК + Ц	8	174,3 ± 9,8**

Примечание: ЛО — ложная операция; П — плацебо; ИР — ишемия-реперфузия; ИПостК — ишемическое посткондиционирование; Ц — цитиколин; * — $p < 0,01$ при сравнении с группами ЛО и ЛО + П; ** — $p < 0,01$ при сравнении с группой ИР; ^а — $p < 0,05$ при сравнении с группой ИР.

сравнении с группой ИР и составляло 53 % от числа жизнеспособных нейронов, полученного в группе ЛО (табл.). Однократное внутривенное введение цитиколина в дозе 500 мг/кг спустя 2 минуты от начала моделирования обратимой 7-минутной ишемии головного мозга приводило к значимому ($p < 0,05$) увеличению числа жизнеспособных пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа при сравнении с аналогичным показателем в группе ИР и составляло 45 % от числа жизнеспособных нейронов, полученного в группе ЛО + П (табл.). Сочетанное применение однократного введения цитиколина и ИПостК (группа ИР + ИПостК + Ц) приводило к значительному увеличению ($p < 0,01$) числа жизнеспособных нейронов поля СА1 гиппокампа по сравнению с группой ИР. Сравнение числа жизнеспособных нейронов поля СА1 гиппокампа между группами ИР + ИПостК, ИР + Ц, а также ИР + ИПостК + Ц не выявило значимых различий ($p > 0,05$). Качественных морфологических различий в повреждении нейронов разных экспериментальных групп обнаружено не было.

Обсуждение

В данном исследовании в качестве экспериментальной модели ишемического повреждения головного мозга была использована модель обратимой двусторонней окклюзии общих сонных артерий у монгольских песчанок. Анатомической особенностью монгольских песчанок является незамкнутый виллизиев круг; поэтому при билатеральной окклюзии общих сонных артерий кровоснабжение переднего мозга прекращается и развивается острая ишемия. Таким образом, использованная модель является адекватной экспериментальной моделью глобального ишемического-реперфузионного повреждения головного мозга у человека и может быть использована для поиска и оптимизации способов нейропротекции. Моделирование 7-минутной глобальной ишемии головного мозга с последующей реперфузией в течение 48 часов приводило к повреждению пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа, которое выражалось в уменьшении числа жизнеспособных нейронов. Обратимая ишемия приводит к развитию повреждения нервной ткани как за счет глубоких нарушений метаболизма нейронов в ходе собственно ишемии, так и в результате необратимого реперфузионного повреждения. Во многих исследованиях было установлено, что ведущая роль в постишемическом повреждении тканей принадлежит свободным радикалам [20, 21]. Нарастание количества поврежденных нейронов в постишемическом периоде также объясняется феноменом отсроченной гибели нейронов, впервые

обнаруженным Т. Kirino в 1982 г. [22]. Применение трех коротких ишемических стимулов по 15 секунд в раннем реперфузионном периоде способствовало увеличению числа жизнеспособных нейронов в пирамидном слое зоны СА1 гиппокампа при сравнении с животными без применения ИПостК. Полученные нами результаты подтверждаются экспериментальными исследованиями о нейропротективном эффекте, обнаруженном при использовании различных экспериментальных моделей. Так, применение ИПостК способствовало уменьшению площади некроза при фокальной ишемии головного мозга у крыс [23], увеличению числа жизнеспособных нейронов в поле СА1 гиппокампа у крыс при глобальной ишемии [24], а также уменьшению повреждения спинного мозга у кроликов при моделировании ишемического и реперфузионного повреждения [25]. В ряде экспериментальных исследований было установлено, что нейропротективный эффект ИПостК реализуется за счет подавления оксидативного стресса и внутриклеточной Ca^{2+} перегрузки, эндотелиальной дисфункции и снижения гибели клеток путем апоптоза, ингибирования накопления нейтрофилов в очаге поражения [7, 9, 10]. Однако полностью механизмы цитопротективного эффекта ИПостК для различных органов и тканей при ишемическом и реперфузионном повреждении не установлены, что не дает возможности использовать протективный потенциал данного феномена в клинической практике.

В нашем исследовании мы изучали нейропротективный эффект изолированного применения ИПостК и нейропротектора цитиколина, а также эффект их сочетанного применения. Было установлено, что цитиколин, введенный в дозе 500 мг/кг через 2 минуты от момента наступления семиминутной глобальной ишемии, способствует сохранению жизнеспособности пирамидных нейронов в поле СА1 гиппокампа. Известно, что механизмы, лежащие в основе нейропротективного действия цитиколина, основаны на ингибировании фосфолипазы А2, участвующей в генерации свободных жирных кислот, а также на увеличении синтеза фосфатидилхолина и глутатиона, снижении глутатион-редуктазной активности и предотвращении апоптотической гибели клеток путем влияния на активность каспазы 3 и каспазы 6 [13, 14]. Выбор дозировки цитиколина был основан на анализе экспериментальных исследований, в которых применяли различные дозы препарата в зависимости от экспериментальной модели и способа введения [13, 26]. Время введения было выбрано с таким учетом, чтобы эффективность препарата можно было оценить в раннем реперфузионном периоде.

Полученные нами результаты подтверждают данные ранее проведенных исследований. Так, было установлено, что введение цитиколина в ранние сроки после восстановления кровотока к головному мозгу способствует уменьшению реперфузионного повреждения; совместное введение цитиколина и индуктора фибринолиза способствовало уменьшению экспериментального инфаркта при сравнении с монотерапией фибринолитиком [13]. Также было установлено, что применение цитиколина у грызунов совместно с ингибиторами эксайтотоксичности, пресинаптическими ингибиторами натриевых каналов и блокаторами кальциевых каналов способствует потенцированию нейропротективного эффекта указанных соединений, что проявляется дополнительным уменьшением зоны инфаркта по сравнению с использованием каждого из этих средств в отдельности [13].

Изучение совместного применения ИПостК и цитиколина при экспериментальном ишемическом инсульте в данной работе было предпринято впервые. Совместное применение ИПостК и цитиколина оказывало значимый нейропротективный эффект, однако выраженность данного эффекта, оцениваемая по числу жизнеспособных нейронов в поле СА1 гиппокампа, не превышала таковую при раздельном применении ИПостК и цитиколина. Таким образом, совместное применение эндогенного способа нейропротекции (ИПостК) и фармакологического нейропротектора цитиколина не приводило к взаимному усилению или ослаблению отмеченных нейропротективных эффектов каждого из воздействий. В литературе имеется единственное упоминание об антиапоптотическом эффекте совместного применения ИПостК и однократного введения цитиколина внутривентриально в дозе 600 мг/кг при экспериментальном ишемическом повреждении спинного мозга у крыс [26]. Однако в указанном исследовании цитиколин вводили за 10 минут до начала моделирования повреждающей ишемии спинного мозга, что не позволяет разделить его эффекты на ишемическую и реперфузионную фазы формирования повреждения нервной ткани. Выводы относительно антиапоптотического эффекта при совместном применении ИПостК и цитиколина были основаны на иммуногистохимическом анализе bcl-2, причем оценку иммунопозитивных клеток проводили полуколичественным методом, выражая степень экспрессии bcl-2 в «+» [26]. Необходимо отметить, что к настоящему моменту в литературе описаны как случаи взаимного потенцирования эффектов различных способов цитопротекции, в частности, при сочетанном применении ишемического preconditionирования сердца и ингибиторов

ангиотензинпревращающего фермента [27], так и подавления эффекта эндогенной цитопротекции [28].

ИПостК головного мозга, обладающее значительным нейропротективным потенциалом, до сих пор остается невостребованным в клинической практике. Помимо недостаточности знаний о фундаментальных механизмах, лежащих в основе реализации цитопротективного эффекта ИПостК, его клиническое применение затрудняется отсутствием данных о взаимодействии данного способа нейропротекции с лекарственными препаратами различного механизма действия, применяемыми пациентами. В нашем исследовании совместное применение ИПостК и цитиколина сопровождалось нейропротективным эффектом, сопоставимым по выраженности с эффектом каждого из воздействий по отдельности. Полученные результаты могут быть использованы в ряде клинических ситуаций, особенно в сердечно-сосудистой хирургии, где в определенных случаях сохраняется риск возникновения гипоксии головного мозга. Проведенное исследование позволит приблизиться к проведению клинических исследований ИПостК и его внедрению в клиническую практику в рамках трансляционной медицины.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ по государственной поддержке ведущих школ (НШ-2359.2012.7).

Литература

1. Суслина З.А., Фоякина А.В. Кардионеврология. — М.: ИМА-ПРЕСС., 2011. — 264 с. // Suslina Z.A., Fonyakina A.V. Cardioneurology [Kardionevrologiya]. — М.: IMA-PRESS., 2011. — 264 p. [Russian].
2. Бокерия Л.А., Полунина А.Г., Бегачев А.В. др. Ишемическое повреждение головного мозга в кардиохирургии: морфологические корреляты и этиологическая значимость микроэмболов и гипоперфузии // Креативная кардиология. — 2008. — № 1. — С. 103–114. // Bokeria L.A., Polunin A.G., Begachev A.V. et al. Ischemic brain damage in cardiac surgery: morphological correlates and etiologic significance microemboli and hypoperfusion // Creative Cardiology [Kreativnaya Kardiologiya]. — 2008. — № 1. — P. 103–114 [Russian].
3. Иванов С.В. Психические расстройства, связанные с хирургическими вмешательствами на открытом сердце // Психиатрия и психофармакология. — 2005. — Т. 7, № 3. — С. 1–10. // Ivanov S.V. Psychiatric disorders associated with surgery on the open heart // Psychiatry and Psychopharmacology [Psikhiatriya i Psikhofarmakologiya]. — 2005. — Vol. 7, № 3. — P. 1–10 [Russian].
4. Sotaniemi K.A. Long-term neurologic outcome after cardiac operation // Ann. Thorac. Surg. — 1995. — Vol. 59, № 5. — P. 1336–1339.

5. Adams H.P., del Zoppo G., Alberts M.J. et al. Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists // *Stroke*. — 2007. — Vol. 38, № 5. — P. 1655–1711.
6. European Stroke Organization (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack // *Cerebrovasc. Dis.* — 2008. — Vol. 25, № 5. — P. 457–507.
7. Zhao H. The protective effect of ischemic postconditioning against ischemic injury: from the heart to the brain // *J. Neuroimmune Pharmacol.* — 2008. — Vol. 2. — P. 313–318.
8. Щербак Н.С., Галагудза М.М., Нифонтов Е.М. и др. Эффект ишемического посткондиционирования при экспериментальной глобальной ишемии головного мозга // *Артериальн. гипертензия*. — 2011. — Т. 17, № 2. — С. 82–188. // Shcherbak N.S., Galagudza M.M., Nifontov E.M. et al. Effect of ischemic postconditioning against experimental global cerebral ischemia // *Arterial Hypertension [Arterialnaya Gipertenziya]*. — 2011. — Vol. 17, № 2. — P. 82–188 [Russian].
9. Zhang W., Wang B., Zhou S., Qiu Y. The effect of ischemic post-conditioning on hippocampal cell apoptosis following global brain ischemia in rats // *J. Clin. Neurosci.* — 2012. — Vol. 9, № 4. — P. 570–573.
10. Gao L., Jiang T., Guo J., et al. Inhibition of autophagy contributes to ischemic postconditioning-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia in rats // *PLoS One*. — 2012. — Vol. 7, № 9. — P. e46092. doi: 10.1371/journal.pone.0046092.
11. Sun J., Tong L., Luan Q., et al. Protective effect of delayed remote limb ischemic postconditioning: role of mitochondrial K (ATP) channels in a rat model of focal cerebral ischemic reperfusion injury // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 2012. — Vol. 32, № 5. — P. 851–859. doi: 10.1038/jcbfm.2011.199.
12. Zhang W., Miao Y., Zhou S., et al. Involvement of glutamate transporter-1 in neuroprotection against global brain ischemia-reperfusion injury induced by postconditioning in rats // *Int. J. Mol. Sci.* — 2010. — Vol. 11, № 11. — P. 4407–4416.
13. Saver J.L. Citicoline: update on a promising and widely available agent for neuroprotection and neurorepair // *Rev. Neurol. Dis.* — 2008. — Vol. 5, № 4. — P. 167–77.
14. Sahota P., Savitz S.I. Investigational therapies for ischemic stroke: neuroprotection and neurorecovery // *Neurotherapeutics*. — 2011. — Vol. 8, № 3. — P. 434–451. — DOI 10.1007/s13311-011-0040-6.
15. Kennedy E.P. The synthesis of cytidine diphosphate choline, cytidine diphosphate ethanolamine, and related compounds // *J. Biol. Chem.* — 1956. — Vol. 222, № 1. — P. 185–191.
16. Krupinski J., Ferrer I., Barrachina M., Secades J.J., Mercadal J., Lozano R. CDP-choline reduces pro-caspase and cleaved caspase-3 expression, nuclear fragmentation, and specific PARP-cleaved products of caspase activation following middle cerebral artery occlusion in the rat // *Neuropharmacology*. — 2002. — Vol. 42, № 6. — P. 846–854.
17. O'Neill M.J., Clemens J.A. Rodent models of global cerebral ischemia // *Curr. Protoc. Neurosci.* — 2001. — Ch. 9. — Pp. 9.5.1–9.5.25.
18. Loskota W.J., Lomax P., Verity M.A. A stereotaxic atlas of the Mongolian gerbil brain. — Ann. Arbor Science Publishers., Ann Arbor, Mich. USA. — 1974.
19. Kirino T., Tamura A., Sano K. A reversible type of neuronal injury following ischemia in the gerbil hippocampus // *Stroke*. — 1986. — Vol. 17, № 3. — P. 455–459.
20. Aronowski J., Strong R., Grotta J.C. Reperfusion injury: demonstration of brain damage produced by reperfusion after transient focal ischemia in rats // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 2007. — Vol. 17. — P. 1048–1056.
21. Takamatsu H., Tsukada H., Kakiuchi T., Nishiyama S., Noda A., Umemura K. Detection of reperfusion injury using PET in a monkey model of cerebral ischemia // *J. Nucl. Med.* — 2000. — Vol. 41, № 8. — P. 1409–1416.
22. Kirino T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia // *Brain Res.* — 1982. — Vol. 239, № 1. — P. 57–69.
23. Taskapilioglu M.O., Alkan T., Goren B. et al. Neuronal protective effects of focal ischemic pre-and/or postconditioning on 4 the model of transient focal cerebral ischemia in rat // *J. Clin. Neurosci.* — 2009. — Vol. 16, № 5. — P. 693–697.
24. Wang J., Shen J., Gao Q. et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion-induced injury in rats // *Stroke*. — 2008. — Vol. 39, № 3. — P. 983–990.
25. Huang H., Zhang L., Wang Y. Effect of ischemic postconditioning on spinal cord ischemic-reperfusion injury in rabbits // *Can. J. Anesth.* — 2007. — Vol. 54, № 1. — P. 42–48.
26. Turkan A., Alkan T., Goren B. et al. Citicoline and post-conditioning provides neuroprotection in a rat model of ischemic spinal cord injury // *Acta Neurochir. (Wien)*. — 2010. — Vol. 52, № 6. — P. 1033–1042.
27. Цырлин В.А., Шляхто Е.В., Нифонтов Е.М. и др. Влияние ингибитора ангиотензин-превращающего фермента спираприла на размер инфаркта и феномен ишемической адаптации миокарда в эксперименте // *Рос. кардиол. журн.* — 2001. — № 6. — С. 60–64. // Tsyrlin V.A. Shlyakhto E.V. Nifontov E.M. et al. Effect of angiotensin-converting enzyme spirapril on infarct size and the phenomenon of ischemic myocardium adaptation in experiment // *Russian Journal of Cardiology [Rossiyskiy Kardiologicheskii Zhurnal]*. — 2001. — № 6. — P. 60–64 [Russian].
28. Бокерия Л.А., Чичерин И.Н. Природа и клиническое значение «новых ишемических синдромов». — ИЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2007. — 302 с. / Bokeria L.A., Chicherin I.N. The nature and clinical significance of the «new ischemic syndromes». — NTSSSH n.a. A.N. Bakulev RAMS. — 2007. — 302 p. [Russian].