ИШЕМИЧЕСКОЕ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Н. С. Щербак[1, 2], М. М. Галагудза[1, 2], Е. М. Нифонтов[1]

[1] ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[2] ФГБУ «Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Щербак Наталия Сергеевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории неотложной кардиологии Института сердечно-сосудистых заболеваний ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петерургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» (ПСПбГМУ им. И. П. Павлова), ведущий научный сотрудник лаборатории нанотехнологий Института экспериментальной медицины ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России (СЗФМИЦ); *Галагудза Михаил Михайлович* — доктор медицинских наук, директор Института экспериментальной медицины СЗФМИЦ, профессор кафедры патофизиологии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова; *Нифонтов Евгений Михайлович* — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией неотложной кардиологии Института сердечно-сосудистых заболеваний ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, профессор кафедры факультетской терапии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Контактная информация: ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петерубрг, Россия, 197341. E-mail: ShcherbakNS@yandex.ru (Щербак Наталия Сергеевна).

Резюме

Ишемическое посткондиционирование головного мозга (ИПостК ГМ) — это эндогенный способ нейропротекции представленный в виде коротких эпизодов ишемии-реперфузии, выполненных в реперфузионный период после повреждающей ишемии. В обзоре рассмотрены эффекты ИПостК ГМ и сигнальные системы, задействованные в механизмах нейропротекции. Представлены сведения о влиянии ИПостК на энергетический метаболизм нейронов.

Ключевые слова: ишемическое посткондиционирование, головной мозг, ишемия-реперфузия.

ISCHEMIC POSTCONDITIONING OF THE BRAIN

N. S. Shcherbak[1, 2], M. M. Galagudza[1, 2], E. M. Nifontov[1]

[1] First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg, Saint-Petersburg, Russia
[2] Federal North-West Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia

Corresponding author: Federal North-West Medical Research Centre, 2 Akkutarova str., St Petersburg, Russia, 197341. E-mail: ShcherbakNS@yandex.ru (Natalia S. Shcherbak — Candidate of Biological Sciences, senior researcher at the Urgent Cardiology Laboratory of Institute of Cardiovascular Diseases of First Pavlov State Medical University of Saint Petersburg, lead researcher of Nanotechnology Laboratory of Institute for Experimental Medicine of Federal North-West Medical Research Centre).

Abstract

Ischemic postconditioning (IPostC) of brain is a method of endogenous neuroprotection provided in the form of short episodes of ischemia-reperfusion made in the reperfusion period after damaging ischemia. The review

УДК. 616.831-005.4

considered the effects IPostC of brain and signaling systems involved in the mechanisms of neuroprotection. The information about the impact IPostC on the energy metabolism of neurons is presented in this review.

Key words: ischemic postconditioning, brain, ischemia-reperfusion.

Статья поступила в редакцию 15.01.2015 принята к печати 02.02.2015.

После открытия цитопротективных эффектов ишемического прекондиционирования (ИПреК), позволяющего ограничить объем повреждения, вызванного ишемией-реперфузией, путем выполнения коротких ишемических стимулов перед повреждением, возникли предпосылки для изучения возможных цитопропротективных эффектов коротких ишемических стимулов, выполненных после повреждающей или тестовой ишемии. Этот защитный феномен был открыт в 2003 г., когда было показано, что короткие повторные периоды ишемии миокарда по 30 секунд в период ранней реперфузии, выполненные после эпизода длительной ишемии, обеспечивают существенный кардиопротективный эффект [1]. Обнаруженный феномен был назван ишемическим посткондиционированием (ИПостК) [1]. Далее кардиопротективный эффект ИПостК был показан на модели изолированного сердца [2]. В 2005 году ИПостК было выполнено на сердце человека при остром инфаркте миокарда [3]. Было показано, что при баллонной ангиопластике проведение 4 эпизодов по 1 минуте раздувания и сдувания баллона способствует уменьшению размера инфаркта при сравнении с контрольной группой [3]. Впервые нейропротективный эффект ИПостК был показан в 2005 году в исследовании на модели фокальной ишемии головного мозга (ГМ) [4]. Начиная с этого момента последовало активное изучение эффектов и механизмов ИПосК. Протективный эффект ИПостК был описан и при воспроизведении ишемии-реперфузии других органов, включая спинной мозг, печень, почку, легкое, тонкую кишку [5–8]. Позднее были открыты другие формы посткондиционирования: гипоксическое, гипотермическое и фармакологическое [9–12]. Механизмы реперфузионного повреждения сложны и включают метаболические нарушения, «невосстановление» кровотока (no-reflow), внутриклеточный отек, эндотелиальную и микроциркуляторную дисфункцию и другие изменения, приводящие в итоге к некрозу и апоптозу клеток [13]. Протективная концепция ИПостК основывается на том, что ткани могут быть защищены от реперфузионного повреждения посредством коротких эпизодов ишемии и реперфузии, выполненных в реперфузионном периоде после длительной ишемии. В зависимости от сроков проведения ишемических стимулов и локализации органа, в котором производятся посткондиционирующие ишемические стимулы, ИПостК можно разделить на три вида: раннее ИПостК, отсроченное ИПостК и дистантное ИПостК. Классическое или раннее ИПостК подразумевает выполнение ишемических стимулов в течение 30 минут после ишемии, при отсроченном ИПостК стимулы выполняются через несколько часов или дней после повреждающей (тестовой) ишемии [14]. Дистантное ИПостК формируется, когда ишемические стимулы выполняются в органе или ткани, анатомически удаленных от органа, подвергшегося тестовой ишемии. Так, в исследованиях было показано, что ИПостК, выполненное в конечности, защищает ГМ от повреждения при ишемии-реперфузии [15].

В экспериментальных работах показано, что создание эпизодов ишемии-реперфузии оказывает протективный эффект после глобальной ишемии ГМ, длящейся от 5 до 15 минут [16, 17]. Несмотря на существование ряда исследований, показывающих, что ИПостК уменьшает объем повреждения и улучшает неврологические функции после ишемического инсульта, механизмы реализации нейропротективного эффекта остаются до сих пор не изученными. Также не изучены эффекты ИПостК при различных протоколах применения посткондиционирующих стимулов, при различной длительности повреждающей ишемии-реперфузии, а также в зависимости от вида и объема ишемии-реперфузии ГМ. Существует несколько исследований, посвященных изучению нейропротективного эффекта ИПостК в зависимости от длительности предшествующей ишемии ГМ. В исследовании на модели постоянной фокальной ишемии ГМ у крыс после постоянной окклюзии средней мозговой артерии (СМА) и билатеральной окклюзии общих сонных артерий (ОСА) на 15, 30 и 60 минут при применении 4 эпизодов 20-секундной окклюзии с 30-секундными эпизодами реперфузии ОСА было обнаружено, что ИПостК уменьшало площадь повреждения на 80 % при 15-минутной ишемии, на 51 % при 30-минутной ишемии и на 17 % при 60-минутной окклюзии ОСА [13]. Необходимо уточнить, что в вышеуказанной работе фокальная ишемия моделировалась путем постоянной окклюзии СМА, кровоснабжающей, в основном, только кору ГМ, а ишемические стимулы про-

изводилось при помощи окклюзии ОСА. Таким образом, нейропротективное действие ИПостК реализовалось фактически в зоне пенумбры, а ишемическим стимулам подвергалась часть ГМ, кровоснабжающаяся из ОСА. В другом исследовании на модели глобальной ишемии ГМ у монгольских песчанок оценивали эффект ИПостК после продолжительной глобальной ишемии ГМ [14]. Было обнаружено, что моделирование эпизодов реперфузии/ишемии после 30-минутной глобальной ишемии ГМ на исследуемой экспериментальной модели не оказывало нейропротективного эффекта независимо от длительности и количества посткондиционирующих стимулов. Более того, моделирование серии 2-минутных эпизодов реперфузии/ишемии после продолжительной ишемии приводило к нарастанию проявлений неврологического дефицита и увеличению летальности. Авторами был сделан вывод: ИПостК неэффективно после достаточно продолжительной глобальной ишемии ГМ у монгольских песчанок [14]. Предполагается, что эффективность применения ИПостК ограничена жесткими временными рамками. Так, при исследовании кардиопротективного эффекта ИПостК первый ишемический стимул моделируется уже через 10–30 с реперфузии, а продолжительность ишемического стимула составляет от 10 до 30 с [15]. В другом исследовании на модели постоянной фокальной ишемии ГМ с применением ИПостК путем билатеральной окклюзии ОСА у крыс было установлено, что 3 эпизода, состоящие из 30 секунд реперфузии и 10 секунд окклюзии, а не 10 эпизодов реперфузии/ишемии обладали нейропротективным действием, в то время как 10 эпизодов по 10 секунд реперфузии и 10 секунд реокклюзии, но не 3 подобных эпизода обладали инфаркт-лимитирующей способностью. Применение стимулов ишемии/реперфузии после 3 минут реперфузии, следующей за ишемией, приводило к потере нейропротективного действия ИПостК [16]. При моделировании 10-минутной глобальной ишемии ГМ у крыс было установлено, что протокол с применением ишемических стимулов после 60 секунд реокклюзии не обладал нейропротективным эффектом [17]. В исследовании на кроликах было обнаружено, что протокол ИПостК, состоящий из 1-минутной реокклюзии после 1-минутной реперфузии, защищает спинной мозг от ишемического повреждения [18]. В исследованиях на сердце было установлено: чем меньше животное и выше интенсивность метаболизма миокарда, тем короче должны быть ишемические стимулы, а на экспериментальных моделях, где используются более крупные животные, имеющие более низкую скорость метаболических процессов, необходимо использовать более продолжительные стимулы [19]. Строгого правила для применения экспериментального протокола ИПостК, также как и для ИПреК, не существует и каждый коллектив авторов вырабатывает свой протокол путем экспериментальных исследований. При этом протоколы применения ишемических посткондиционирующих стимулов, которые не оказывали нейропротективных эффектов в эксперименте с использованием той или иной экспериментальной модели, почти всегда остаются неопубликованными. Исследования, направленные на изучение эффектов и механизмов ИПостК при ишемии-реперфузии ГМ носят хаотичный и весьма разрозненный характер. Многие авторы при проведении исследований исходили из представлений о том, что в механизмах реализации эффектов ИПостК задействованы те же сигнальные системы, что и при реализации ИПреК (табл.) [20].

Таблица

ОСНОВНЫЕ ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА [19]

Ишемическое посткондиционирование
1. Ослабление оксидативного стресса
2. Блокирование открытия митохондриальной поры
3. Ослабление стресса эндоплазматической сети
4. Ослабление эксайтотоксичности
5. Ингибирование апоптоза
6. Ингибирование аутофагии
7. Улучшение мозгового кровообращения
8. Регуляция путей передачи сигнала

Сигнальные пути ишемического посткондиционирования головного мозга

В механизмах реализации эффекта ИПостК задействованы практически те же самые сигнальные пути, что и при ИПреК.

PI3 киназа (PI3K)/Akt киназа (antiapoptotic kinase, Akt) путь — это один из центральных внутриклеточных сигнальных путей, отвечающий за выживаемость клетки. В исследовании Zhao H. и соавт. в 2006 году было показано, что ослабление дисфункции Akt-пути способствует выживаемости нейронов после инсульта [21]. Введение блокатора PI3 киназы вортманнина за 10 минут до моделирования ишемии подавляет нейропротективный эффект ИПостК у мышей [22]. Также в ряде исследований с другим ингибитором PI3 киназы LY294002 было показано, что ИПостК уменьшает повреждение ГМ при ишемии-реперфузии путем активации PI3 киназы и Akt киназы [16, 21].

Na^+/Ca^{2+}-обменник (Na+/Ca2+ exchanger (NCX) — это мембранный транспортер, существующий в виде трех изоформ (NCX1, NCX2, NCX3), широко представленный в ГМ и вовлечены в контроль Na^+ и Ca^{2+} гомеостаза и в прогрессирование повреждения при ишемии-реперфузии. В исследовании на крысах было показано, что в коре ГМ применение ИПостК способствует увеличению экспрессии белка NCX3 и мРНК гена ncx3, которое опосредуется через PI3K/Akt путь, так как введение ингибитора PI3K подавляло экспрессию NCX3 [22].

Протон-чувствительные ионные каналы (Acid-sensing ion channels, ASICs) широко представлены в сенсорных периферических нейронах, в нейронах ЦНС и играют важную роль в различных физиологических и патологических процессах. В исследовании на крысах было показано, что экспрессия мРНК и экспрессия белка ASIC1a в височно-теменной области коры ГМ у крыс существенно уменьшается при применении ИПостК и эти изменения в экспрессии опосредуются через PI3K/Akt путь, так как применение ингибитора PI3K LY294002 предотвращало изменения экспрессии ASIC1a [23].

Митоген-активируемые протеинкиназы, МАПК (mitogen-activated protein kinases, MAPK) — сигнальная система, включающая в себя группу мультифункциональных сигнальных путей, содержащих одну из МАПК, опосредующих клеточный рост, развитие, деление, дифференцировку и другие физиологические и патологические процессы. К наиболее важным МАПК относят: ERK киназа (extracellular signal regulated kinase), ERK1/2, тирозинкиназа, p38 киназа (МАПК с молекулярным весом в 38 кДа) и JNK киназа (от cJun N terminal kinase). МАПК сигнальная система играет двоякую роль в выживании нейронов после инсульта. Активность ERK1/2 генерирует цитокины и свободные радикалы и другие воспалительные факторы после инсульта, которые могут усугубить степень повреждения, в то же время, активность ERK1/2 продуцирует и эстрогены [24]. Результаты исследований о вовлеченности МАПК сигнальной системы в реализацию нейропротективного эффекта ИПостК немногочисленны и противоречивы. Так, на модели фокальной ишемии ГМ у крыс было показано, что ИПостК ингибирует увеличение экспрессии p-JNK и ERK1/2 в МАПК системе [16]. В исследовании на спинном мозге кроликов было установлено, что нейропротективный эффект ИПостК сопровождается увеличением экспрессии ERK1/2 и подавляется применением ингибитора ERK PD-98059 [25]. Еще в одном исследовании на крысах было показано, что в коре ГМ применение ИПостК способствует увеличению экспрессии ERK1/2 и p38-киназы, при этом нейропротективный эффект ИПостК не ингибировался блокаторами ERK1/2 и p38 киназы — U0126 или SB203580. Авторы исследования предположили, что МАПК сигнальная система не вовлечена в механизмы реализации нейропротективного эффекта ИПостК [26]. Таким образом, к настоящему моменту существует только три исследования, направленных на изучение роли МАПК сигнальной системы в реализации протективных эффектов ИПостК. При этом результаты их существенно различаются, что указывает на необходимость более тщательного дальнейшего изучения с использованием различных моделей ишемии-реперфузии ГМ.

Протеинкиназа С (Protein kinase C PKC) — сигнальный путь. PKC представляет собой многосубъединичный белок, состоящий, как минимум из 12 изоэнзимов, при этом изоформы δPKC и εPKC играют существенную роль в развитии повреждения ГМ при ишемии и определяют выживаемость нейронов. В исследованиях на модели фокальной ишемии ГМ у крыс было установлено, что изоформа *δ*PKC может стимулировать апоптоз, а εPKC ответственна за выживаемость нейронов [27]. В другом исследовании на модели фокальной ишемии ГМ было установлено, что нейропротективный эффект ИПостК выражался в уменьшении объема некроза, и в зоне пенумбры было обнаружено подавление экспрессии белка *δ*PKC и ослабление в степени уменьшения фосфорилирования εPKC по сравнению с контролем [16].

Толл-подобные рецепторы 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) являются важными посредниками передачи сигнала от микроорганизмов к воспалительным клеткам и участвуют во врожденном иммунитете. На модели фокальной ишемии ГМ, индуцированной путем фотохимического тромбоза с последующим применением ИПостК, представленным в виде эпизодов реперфузии-ишемии, выполненных при окклюзии правой ОСА, была показана вовлеченность TLR4 в механизмы ИПостК [28]. В аналогичных исследованиях было установлено, что ИПостК ослабляет воспаление, уменьшает объем инфаркта, ингибирует повышенную экспрессию мРНК TLR4 и экспрессию белка TLR4, а также улучшает психофизиологические функции животных [29].

Индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1) является важнейшим транскрипционным фактором, отвечающим за регуляцию экспрессии генов при гипоксии и ишемии. Поскольку уменьшение реперфузионного повреждения при ИПостК происходит за счет выполнения коротких ишемических стимулов, можно предполагать участие HIF-1 в реализа-

ции протективного эффекта ИПостК. Транскрипционный фактор HIF-1 — это фактор, регулирующий экспрессию более чем 200 генов, играющих важную роль в формировании устойчивости к ишемии и гипоксии [30]. Молекула транскрипционного фактора HIF-1 представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц — α и β. При нормоксии (pO_2 ~ 100 мм рт. ст.) α-субъединица HIF-1 подвергается быстрой (в течение 26 секунд) деградации под действием убиквитин-протеасомной системы, что делает активацию HIF-1α-зависимых генов невозможной. Однако при понижении напряжения кислорода в тканях происходит усиление синтеза шаперонов Hsp70 и Hsp90, которые защищают HIF-1α от убиквитин-протеасомной деградации [30]. При достижении определенной концентрации в клетке, активный димер HIF-1α транслоцируется в ядро, где активирует экспрессию целого ряда кислород-чувствительных генов [31]. Происходит повышение синтеза гликолитических ферментов, таких как фосфофруктокиназа, пируваткиназа, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа, фосфоглицераткиназа и т.д., усиливается экспрессия мембранных транспортеров глюкозы (GLUT1 и GLUT3), генов индуцибельной NO-синтазы и циклооксигеназы-2, генов факторов роста, в частности, сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и многих других [30, 31]. Возможно, что посткондиционирующие ишемические стимулы, выполненные в реперфузионный период, способствуют изменению экспрессии генов, в результате чего уменьшается степень повреждения при действии ишемии-реперфузии. Применение эпизодов нормобарической гипоксии (9 % кислорода, 91 % азота) длительностью 90 минут в течение 3 дней после моделирования экспериментальной эпилепсии у крыс приводило к достоверному увеличению экспрессии белка HIF-1α в зоне CA3 гиппокампа при выраженном уменьшении морфологического повреждения нейронов зоны CA3 гиппокампа и улучшении физиологических функций [32]. Авторы исследования предложили рассматривать мягкую, непродолжительную гипоксию как перспективный способ лечения эпилепсии [32]. На клеточной культуре нейронов в качестве тестового повреждающего воздействия применяли депривацию кислорода/глюкозы, а в качестве посткондиционирующего стимула — часовую гипоксию различной степени (0,1 %, 1 %, 2 % кислорода). При проведении количественного колориметрического иммунологического анализа было обнаружено увеличение уровня белка HIF-1α в ядрах нейронов после применения ПостК 0,1 % O_2, в то время как в контроле не наблюдалось увеличения экспрессии белка HIF-1α. Был сделан вывод о том, что, несмотря на повреждающее действие депривации, нейроны еще сохраняют достаточный потенциал, чтобы изменить паттерн экспрессии HIF-1α в ответ на действие гипоксии [11]. Таким образом, в указанном исследовании умеренная гипоксия, выступающая в качестве посткондиционирующего фактора, стимулировала нейропротективный ответ.

Таким образом, к настоящему времени существуют исследования, показывающие вовлеченность различных сигнальных систем в реализацию конечных эффектов ИПостК, однако эти исследования немногочисленны, а результаты их зачастую противоречивы. Во многом это объясняется использование различных экспериментальных методик и протоколов ИПостК; также до сих пор остается непонятным, что именно явилось ключевым моментом, приведшим к активации звеньев сигнальных цепей при выполнении ишемических посткондиционирующих стимулов.

Протективные эффекты и механизмы реализации ишемического посткондиционирования головного мозга

Неотложная терапия острых ишемических событий в основном фокусируется на восстановлении кровотока. Однако реперфузия является противоречивой необходимостью. С одной стороны, реперфузия играет важную роль после инсульта ГМ, с другой стороны, генерирует большое количество АФК, которые вызывают сильный окислительный стресс. В немногочисленных исследованиях показано, что ИПостК может снизить генерацию АФК после ишемии-реперфузии, путем повышения эндогенной активности антиоксидантных ферментов, также редуцируется окисление белков и липидов и ослабляется оксидативный стресс, в результате чего и проявляется нейропротективный эффект [13, 33]. На модели фокальной ишемии ГМ у крыс in situ было показано, что ИПостК ослабляет продукцию супероксидного радикала в периоде ранней реперфузии после инсульта, а также уменьшает объем инфаркта [13]. В другом исследовании, на модели 4 сосудистой глобальной ишемии ГМ у крыс было показано, что ИПостК приводило к увеличению числа жизнеспособных нейронов в поле CA1 гиппокампа. При этом спектрофотометрически было показано, что ИПостК приводит к повышению активности супероксиддисмутазы (СОД) в стриатуме, гиппокампе и коре ГМ [34].

На модели фокальной ишемии ГМ у крыс было показано, что применение ИПостК понижало уровень концентрации внеклеточного глутамата [35]. Глутаминсинтетаза (ГС) — это фермент, который

экспрессируется в глиальных клетках и может влиять на феномен эксайтотоксичности. На модели глобальной ишемии ГМ у крыс было показано, что ИПостК, представленное в виде 6 эпизодов по 10-секунд реперфузии/реокклюзии приводило к увеличению числа жизнеспособных нейронов в поле CA1 гиппокампа, при этом методом вестерн блотинга отмечалось увеличение экспрессии ГС в области гиппокампа [36]. Можно предположить, что глутаматные транспортеры (ГТ) также вовлечены в механизмы реализации ИПостК. Основная роль ГТ — это поддержание низкой концентрации глутамата путем удаления его из внеклеточного пространства. Глутаматный транспортер 1 (ГТ1) представляет собой наиболее распространенный тип транспортера глутамата в ГМ и играет важную роль в удалении глутамата из синаптического пространства. Также на модели глобальной ишемии ГМ у крыс было показано, что ИПостК уменьшает гибель нейронов путем увеличения экспрессии ГТ1, которая была значительно понижена при ишемии-реперфузии [36].

Существуют исследования, показывающие влияние ИПостК на мозговой кровоток. На модели глобальной ишемии у крыс применение ИПостК способствовало увеличению регионарного кровотока в области гиппокампа, которое было зафиксировано при помощи лазерной допплеровской флоуметрии [37]. В последующих исследованиях также было обнаружено увеличение уровня мозгового кровотока после применения ИПостК [38]. Таким образом, можно предположить, что постконди-ционирующие стимулы позволяют поддерживать кровоток ГМ на том уровне, при котором проявляется нейропротективный эффект ИПостК.

Ингибирование апоптоза при ишемическом постконди-ционировании головного мозга

В ряде исследований было показано, что применение ИПостК приводит к повышению экспрессии каспазы-3, каспазы-6, каспазы-9 и Bax с одновременным понижением экспрессии белка Bcl-2. Авторами было сделано предположение, что нейропротективный эффект ИПостК, вероятнее всего, достигается за счет блокирования механизмов апоптоза [33, 39]. Необходимо учитывать, что многие патологические процессы могут приводить к апоптозу: окислительный стресс, кальциевая перегрузка, эксайтотоксичность, митохондриальная дисфункция, воспаление. Предполагается, что апоптоз при ИПостК тормозится посредством уменьшения окислительного стресса [13], влияния на проницаемость митохондриальной поры [40], уменьшения стресса эндоплазматической сети [41], ослабления феномена эксайтотоксичности [35].

На модели глобальной ишемии ГМ у крыс применение постконди-ционирующих стимулов способствовало увеличению выживаемости нейронов и уменьшению индекса неврологического дефицита. При этом отмечалось уменьшение высвобождения цитохрома с из митохондрий в цитозоль. Авторы предположили, что ИПостК уменьшает степень ишемического и реперфузионного повреждения путем блокирования апоптоза [42].

В другом исследовании на модели фокальной ишемии ГМ у крыс было показано, что применение ИПостК существенно уменьшает объем области инфаркта, подавляет апоптоз, активирует каспазу-12 и увеличивает экспрессию глюкоза — регулируемого белка 78 (glucose-regulated protein 78, GRP78). При этом применение ингибитора PI3 киназы LY294002 увеличивает количество TUNEL-позитивных клеток в зоне пенумбры при сравнении с животными с применением ИПостК, а также подавляет эффект ИПостК, оказанный на каспазу-12 и белок GRP78. Авторы предположили, что ИПостК защищает ГМ от повреждающего действия ишемии-реперфузии путем подавления стресса эндоплазматической сети, индуцирующего апоптоз через PI3K/Akt путь [41].

Белок Bcl2 является антиапоптотическим белком и реализует свою функцию за счет предотвращения олигомеризации и транслокации белка Bax в митохондрии с последующим подавлением высвобождения проапоптотических митохондриальных белков через митохондриальные поры [43]. Однако результаты проведенных исследований, направленных на изучение роли белка Bcl2 в реализации нейропротективного эффекта ИПостК ГМ, немногочисленны и противоречивы [39, 44]. Так, при фокальной 60-минутной ишемии ГМ у крыс линии Sprague-Dawley применение 6 эпизодов реперфузии/ишемии по 30 секунд к 24 часам реперфузии способствовало уменьшению объема повреждения и проводило к увеличению уровня белка Bcl2, выявленного при помощи Вестерн-блоттинга в пораженном полушарии [39]. Также методом Вестерн-блоттинга было установлено, что применение ИПостК после глобальной ишемии ГМ у крыс способствует увеличению экспрессии белка Bcl2 и увеличению числа жизнеспособных нейронов в поле CA1 у крыс [44]. С другой стороны, существуют противоположные результаты ряда исследований относительно экспрессии белка Bcl2 [45, 46]. В исследовании при глобальной ишемии ГМ у крыс было установлено, что 8-минутная ишемия с последующей реперфузией длительностью 3 суток приводила к достоверному повышению экспрессии белка Bcl2 в зоне CA1 и GD гиппокампа,

верифицированному иммуногистохимически [46]. Еще в одной работе, после 8-минутной глобальной ишемии ГМ у крыс иммуногистохимически выявляли активность экспрессии белка Bcl2 в поле CA1 гиппокампа к концу третьих суток реперфузионного периода. При этом различий в экспрессии белка между ложнооперированными крысами и крысами, перенесшими ишемию, обнаружено не было [45]. Причины противоречивых результатов могут быть связаны с различиями в протоколах ИПостК, в использовании различных экспериментальных моделей инсульта, в молекулярных методиках детекции экспрессии белка Bcl2.

В ответ на окислительный стресс происходит повышение проницаемости наружной мембраны митохондрий, что приводит к транслокации проапоптотического белка Bax в митохондрии и, напротив, выходу цитохрома с из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль [47]. На модели фокальной ишемии у крыс было установлено, что ИПостК способствует уменьшению ишемического и реперфузионного повреждения ГМ и способствует уменьшение экспрессии проапототического белка Bax в нейронах пенумбры [39]. В другом исследовании на модели глобальной ишемии ГМ у крыс показано, что ИПостК, представленное в виде трех эпизодов по 15-сек/15-сек реперфузии/реокклюзии, приводит к увеличению числа жизнеспособных нейронов в поле CA1 гиппокампа, а также к снижению количества Bax-позитивных нейронов [48].

Митохондриальная пора (mitochondrial permeability transition pore, MPT) во время ишемии находится в закрытом состоянии и открывается при реперфузии, при этом большое количество апоптозиндуцирующих белков высвобождается из митохондрии и приводит к развитию апоптоза. Открытие МТР является важнейшим фактором, определяющим гибель клеток после ишемии-реперфузии [49]. При фокальной ишемии ГМ у крыс, моделируемой при помощи введения монофиламентного волокна в СМА, было показано, что применение ИПостК или введение блокатора МТР циклоспорина А существенно уменьшает объем инфаркта и понижает уровень неврологического дефицита, в то время как введение атрактилозида, способствующего открытию МТР, приводило к блокированию всех нейропротективных эффектов ИПостК [40]. Существует несколько исследований, показывающих, что ИПостК ингибирует деполяризацию митохондриальной мембраны и открытие МТР путем активации митохондриальных АТФ-чувствительных калиевых каналов (митоК$_{АТФ}$). Так, при моделировании ишемии ГМ у мышей путем 10-минутной окклюзии ОСА и на модели фокальной обратимой ишемии ГМ у крыс было показано, что нейропротективный эффект применения диазоксида, способствующего активации митоК$_{АТФ}$ и защищающего ГМ при ишемии сопоставим с эффектом использованных протоколов ИПостК, а применение блокаторов митоК$_{АТФ}$ 5-гидроксидеканота или глибенкламида отменяет нейропротективные эффекты ИПостК [50, 51].

Ишемическое посткондиционирование и энергетический метаболизм нейронов

Несмотря на существование достаточного количества исследований, направленных на изучение эффектов и механизмов ИПостК, исследования активности ферментов энергетического метаболизма нейронов ГМ в ответ на применение посткондиционирующих стимулов представляют редкость. O'Sullivan и соавт. [52], основываясь на идее единых механизмов индукции ИПреК и ИПостК, использовали диазоксид — известный индуктор ИПреК для индукции ИПостК. Прекондиционирующее действие диазоксида основано на открытии митоК$_{АТФ}$ каналов и ингибировании сукцинатдегидрогеназы [52]. В исследовании на крысах моделировали геморрагический инсульт в комбинации с односторонней перевязкой ОСА и через 60 минут после моделирования комбинированного повреждения ГМ применяли диазоксид. Применение диазоксида приводило к индукции толерантности и существенному повышению уровня экспрессии белков теплового шока HSP25 и HSP70 в ипсилатеральной области коры ГМ и гиппокампе [52]. В наших исследованиях на модели глобальной ишемии ГМ у крыс и на модели ишемии-реперфузии переднего мозга у монгольских песчанок было показано, что применение ИПостК в ранний реперфузионный период способствует значимому увеличению количества морфологически неизмененных нейронов в полях CA1 и CA3 гиппокампа, а также сопровождается понижением активности СДГ в неизменных нейронах всех полей гиппокампа [53, 54]. Другой ключевой фермент окислительно-восстановительных реакций энергетического метаболизма клетки — лактатдегидрогеназа (ЛДГ) — был изучен при глобальной ишемии ГМ у песчанок монгольских. Было установлено, что применение ИПостК способствовало значимому увеличению количества морфологически неизмененных нейронов в поле CA1 гиппокампа, а также сопровождалось повышением активности в них ЛДГ [55].

Таким образом, нейропротективная эффективность ИПостК доказана в ряде исследований, однако до сих пор остается непонятным, как именно ишемические посткондиционирующие стимулы активизируют механизмы адаптации, приводящие к цитопротективному эффекту. По-прежнему нет

точных сведений о том, сколько ишемических стимулов и какой длительности необходимо применять при определенной длительности повреждающей ишемии, а также в зависимости от области ГМ. Являются ли наблюдаемые изменения в уровне экспрессии генов и белков прямым следствием происходящего процесса, или они представляют собой вторичную реакцию организма в ответ на происходящее событие?

ИПостК подразумевает выполнение нескольких циклов перфузии/реокклюзии непосредственно после повреждающей ишемии. Этот способ восстановления кровотока позволяет ослабить реперфузионное повреждение, развивающееся в первые минуты восстановления кровотока. Можно предположить, что медленное и постепенное увеличение реперфузионного кровотока приводит к более слабому реперфузионному повреждению, чем резкое и полное восстановление кровотока. С другой стороны, наличие нейропротективного эффекта при применении отсроченного и дистантного ИПостК позволяет сделать вывод о том, что цитопротективный эффект является следствием не только изменений в скорости восстановления кровотока при реперфузии, но и системных изменений в организме.

ИПостК обладает большим защитным потенциалом для органов и тканей при повреждающем действии ишемии-реперфузии, и это позволяет рассматривать его как перспективный способ нейропротекции в клинической практике. Острая ишемия ГМ может возникнуть внезапно, в то время как ИПостК может быть применено как нейропротективное воздействие после ишемического события в различные сроки реперфузионного периода. Однако для внедрения ИПостК в виде ишемических стимулов или в виде новых лекарственных препаратов, механизм действия которых основан на механизмах реализации ИПостК, в клиническую практику в рамках трансляционной медицины необходимы дальнейшие исследования.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ по государственной поддержке ведущих научных школ (НШ-1611.2014.7)

Список литературы

1. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003;285(2):579–588. doi: 10.1152/ajpheart.01064.2002.

2. Galagudza M, Kurapeev D, Minasian S, Valen G, Vaage J. Ischemic postconditioning: brief ischemia during reperfusion converts persistent ventricular fibrillation into regular rhythm. Eur J Cardiothorac Surg. 2004;25(6):1006–1010. do: 10.1016/j.ejcts.2004.02.003.

3. Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I et al. Postconditioning the human heart. Circulation. 2005;112 (14):2143–2148. doi: 10.1161/circulationaha.105.558122.

4. Xiong L, Yang J, Xu N. Effects of ischemic postconditioning on focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats. Chinese Journal of Anesthesiology. 2005;25(7):508–510.

5. Huang H, Zhang L, Wang Y, Yao J, Weng H, Wu H et al. Effect of ischemic post-conditioning on spinal cord ischemic-reperfusion injury in rabbits. Can J Anaesth. 2007;54(1):42–48. doi: 10.1007/bf03021898.

6. Santos CHM, Gomes OM, Pontes JCDV, Miijiet LNO, Bispo MAF. The ischemic preconditioning and postconditioning effect on the intestinal mucosa of rats undergoing mesenteric ischemia/reperfusion process. Acta Cir Bras. 2008;23(1):22–28. doi: 10.1590/s0102–86502008000100005.

7. De Rougemont O, Lehmann K, Clavien PA. Preconditioning, organ preservation, and postconditioning to prevent ischemia-reperfusion injury to the liver. Liver Transpl. 2009;15(10):1172–1182. doi: 10.1002/lt.21876.

8. Zhang WL, Zhao YL, Liu XM, Chen J, Zhang D. Protective role of mitochondrial K-ATP channel and mitochondrial membrane transport pore in rat kidney ischemic postconditioning. Chin Med J (Engl). 2011;124(14):2191–2195.

9. Nishio S, Yunoki M, Chen ZF, Anzivino MJ, Lee KS. Ischemic tolerance in the rat neocortex following hypothermic preconditioning. J Neurosurg. 2000;93(5):845–851. doi: 10.3171/jns.2000.93.5.0845.

10. Lee JJ, Li L, Jung HH, Zuo Z. Postconditioning with isoflurane reduced ischemia-induced brain injury in rats. Anesthesiology. 2008;108(6):1055–1062. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181730257.

11. Leconte C1, Tixier E, Freret T, Toutain J, Saulnier R, Boulouard M et al. Delayed Hypoxic Postconditioning Protects Against Cerebral Ischemia in the Mouse. Stroke. 2009;40 (10):3349–3355. doi: 10.1161/STROKEAHA.109.557314.

12. Liu C, Weaver J, Liu KJ. Rapid Conditioning With Oxygen Oscillation Neuroprotection by Intermittent Normobaric Hyperoxia After Transient Focal Cerebral Ischemia in Rats. Stroke. 2012;43(1):220–226. doi: 10.1161/strokeaha.111.625756.

13. Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. J Cereb Blood Flow Metab. 2006;26(9):1114–1121. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600348.

14. Щербак НС, Галагудза ММ, Нифонтов ЕМ, Баранцевич ЕР, Шляхто ЕВ. Эффект ишемического постдиционирования при экспериментальной глобальной ишемии головного мозга. Артериальная гипертензия. 2011;17(2):182–188. [Shcherbak NS, Galagudza MM, Nifontov EM, Barantsevitch ER, Shlyakhto EV. Effect ofischemic postconditioning during experimental cerebral ischemia. Arterial Hypertension. 2011;17(2):182–188. In Russian].

15. Boengler K, Buechert A, Heinen Y, Roeskes C, Hilfiker-Kleiner D, Heusch G, Schulz R. Cardioprotection

by ischemic postconditioning is lost in aged and STAT3-deficient mice. Circ Res. 2008;102(1):131–135. doi: 10.1161/circresaha.107.164699.

16. Gao X, Zhang H, Takahashi T, Hsieh J, Liao J, Steinberg GK, Zhao H. The Akt signaling pathway contributes to postconditioning's protection against stroke; the protection is associated with the MAPK and PKC pathways. J Neurochem. 2008;105(3):943–955. doi: 10.1111/j.1471–4159.2008.05218.x.

17. Jiang X, Shi E, Nakajima Y, Sato S. Postconditioning, a series of brief interruptions of early reperfusion, prevents neurologic injury after spinal cord ischemia. Ann Surg. 2006;244:148 –153. doi: 10.1097/01.sla.0000217608.08582.35.

18. Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Zatta AJ, Kin H, Halkos ME, Kerendi F. Postconditioning — A new link in nature's armor against myocardial ischemia-reperfusion injury. Basic Res Cardiol. 2005;100(4):295–310. doi: 10.1007/s00395–005–0523-x.

19. Ma XD, Song JN, Zhang M, An JY, Zhao YL, Zhang BF. Advances in research of the neuroprotective mechanisms of cerebral ischemic postconditioning. Int J Neurosci. 2014; Early Online: 1–9.

20. Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Phosp hoinositide-3-kinase/Akt survival signal pathways are implicated in neuronal survival after stroke. Mol Neurobiol. 2006;34(3):249–269. doi: 10.1385/mn:34:3:249.

21. Rehni AK, Singh N. Role of phosphoinositide 3-kinase in ischemic postconditioning-induced attenuation of cerebral ischemia-evoked behavioral deficits in mice. Pharmacol Rep. 2007;59(2):192–198.

22. Pignataro G, Esposito E, Cuomo O, Sirabella R, Boscia F, Guida N et al. The NCX3 isoform of the Na^+/Ca^{2+} exchanger contributes to neuroprotection elicited by ischemic postconditioning. J Cereb Blood Flow Metabol. 2011;31(1):362–370. doi: 10.1038/jcbfm.2010.100.

23. Pignataro G, Cuomo O, Esposito E, Sirabella R, Di Renzo G, Annunziato L. ASIC1a contributes to neuroprotection elicited by ischemic preconditioning and postconditioning. Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol. 2011;3(1):1–8.

24. Sawe N, Steinberg G, Zhao H. Dual roles of the MAPK/ERK1/2 cell signaling pathway after stroke. J Neurosci Res. 2008;86(8):1659–1669. doi: 10.1002/jnr.21604.

25. Jiang X, Ai C, Shi E, Nakajima Y, Ma H. Neuroprotection against Spinal Cord Ischemia-Reperfusion Injury Induced by Different Ischemic Postconditioning Methods Roles of Phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt and Extracellular Signal-regulated Kinase. Anesthesiol. 2009;111(6):1197–1205. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181bf1d93.

26. Pignataro G, Meller R, Inoue K, Ordonez AN, Ashley MD, Xiong Z et al. In vivo and in vitro characterization of a novel neuroprotective strategy for stroke: ischemic postconditioning. J Cereb Blood Flow Metabol. 2008;28 (2):232–241.

27. Shimohata T, Zhao H, Sung JH, Sun G, Mochly-Rosen D, Steinberg GK. Suppression of delta PKC activation after focal cerebral ischemia contributes to the protective effect of hypothermia. J Cereb Blood Flow Metabol. 2007;27 (8):1463–1475.

28. Feng R, Li S, Li F. Toll-like receptor 4 is involved in ischemic tolerance of postconditioning in hippocampus of tree shrews to thrombotic cerebral ischemia. Brain Res. 2011;1384:118–127. doi: 10.1016/j.brainres.2011.02.005.

29. Rui F, Shuqing LI. Postconditioning modulates TLR4 expression in hippocampus of tree shrews with thrombotic cerebral ischemia. Chin J Pathophysiol. 2011;27 (6):1048–1052. doi: 10.1016/j.brainres.2011.02.005.

30. Loor G, Schumacker PT. Role of hypoxia-inducible factor in cell survival during myocardial ischemia-reperfusion. Cell Death Differ. 2008;15(4):686–690. doi: 10.1038/cdd.2008.13.

31. Hollmann M, Hartley M, Heinemann S. Ca2+ permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. Science. 1991;252 (5007):851–853.

32. Yang Y, Chen J, Li L, Gao Y, Chen J, Fei Z, Liu W. Effect of different mild hypoxia manipulations on kainic acid-induced seizures in the hippocampus of rats. Neurochem Res. 2013;38(1):123–132. doi: 10.1007/s11064–012–0899–6.

33. Abas F, Alkan T, Goren B, Taskapilioglu O, Sarandol E, Tolunay S. Neuroprotective Effects of Postconditioning on Lipid Peroxidation and Apoptosis after Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. Turk Neurosurg. 2010;20(1):1–8.

34. Danielisová V, Némethová M, Gottlieb M, Burda J. The changes in endogenous antioxidant enzyme activity after postconditioning. Cellular and Molecular Neurobiology. 2006;26(7–8):1181–1191.

35. Lu W, Jiang D, Sun R et al. Effect of ischemic postconditioning on glutamate levels after focal cerebral ischemia reperfusion in rat. Chin J Neuroanat. 2011;27(6):628–632.

36. Zhang W, Miao Y, Zhou S, Jiang J, Luo Q, Qiu Y. Neuroprotective effects of ischemic postconditioning on global brain ischemia in rats through upregulation of hippocampal glutamine synthetase. J Clinic Neurosci. 2011;18(5):685–689. doi: 10.1016/j.jocn.2010.08.027.

37. Li SQ, Luo HY. Effects of ischemic postconditioning on hippocampus CA1 area rCBF and astrocyte activation after cerebral ischemia in tree shrews. Chin J Pathophysiol. 2008;24(6):1090–1095.

38. Luo HY, Li SQ. Ischemic postconditioning increases the change of hippocampus rCBF and VEGF following cerebral Ischemic in tree shrews. Bas Clinic Med. 2008;28 (7):676–680.

39. Xing B, Chen H, Zhang M, Zhao D, Jiang R, Liu X, Zhang S. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after focal cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat. Stroke. 2008;39(8):2362–2369. doi: 10.1161/ STROKEAHA.107.507939.

40. Sun J, Luan Q, Dong H, Song W, Xie K, Hou L, Xiong L. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening contributes to the neuroprotective effects of ischemic postconditioning in rats. Brain Research. 2012;14 (36):101–110. doi: 10.1016/j.brainres.2011.11.055.

41. Yuan Y, Guo Q, Ye Z, Pingping X, Wang N, Song Z. Ischemic postconditioning protects brain from

ischemia/reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis through PI3K-Akt pathway. Brain Research. 2011;1367:85 –93. doi: 10.1016/j.brainres.2010.10.017.

42. Wang JY, Shen J, Gao Q, Ye ZG, Yang SY, Liang HW et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion-induced injury in rats. Stroke. 2008;39(3):983–990. doi: 10.1161/STROKEAHA.107.499079.

43. Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. Annu Rev Physiol. 1998;60:619–642.

44. Ding ZM, Wu B, Zhang WQ, Lu XJ, Lin YC, Geng YJ, Miao YF. Neuroprotective Effects of Ischemic Preconditioning and Postconditioning on Global Brain Ischemia in Rats through the Same Effect on Inhibition of Apoptosis. Int J Mol Sci. 2012;13(5):6089–6101. doi: 10.3390/ijms13056089.

45. Zhang QG, Wang RM, Han D, Yang LC, Li J, Brann DW. Preconditioning neuroprotection in global cerebral ischemia involves NMDA receptor-mediated ERK-JNK3 crosstalk. Neurosci Res. 2009;63(3):205–212.

46. Nemethova M, Danielisova V, Gottlieb M, Kravcukova P, Burda J. Ischemic postconditioning in the rat hippocampus: mapping of proteins involved in reversal of delayed neuronal death. Arch Ital Biol. 2010;148 (1):23–32.

47. Lim ML, Lum MG, Hansen TM. On the release of cytochrome C from mitochondria during cell death signaling. J Biomed Sci. 2002;9:488–506.

48. Щербак НС, Бещук ОВ, Галагудза ММ, Овчинников ДА, Кузьменков АН, Митрофанова ЛБ и др. Влияние ишемического посткондиционирования на уровень проапоптотического белка в нейронах зоны CA1 гиппокампа при глобальной ишемии-реперфузии головного мозга у крыс. Трансляционная медицина. 2012;5:82–86. [Shcherbak NS, Beschuk OV, Galagudza MM, Ovchinnikov DA, Kuzmenkov AN, Mitrofanova LB. The effect of ischemic postconditioning on bax in hippocampal CA1 during global cerebral ischemia-reperfusion in rats. Translational Medicine. 2012;5:82–86. In Russian].

49. Song XY, Hu JF, Chen NH. Neurons apoptosis and cerebral ischemia. Zhong Yaol Tong. 2012;28(3):307–310.

50. Pateliya BB, Singh N, Jaggi AS. Possible role of opioids and K (ATP) channels in neuroprotective effect of postconditioning in mice. Biol Pharm Bull. 2008;31 (9):1755–1760.

51. Robin E1, Simerabet M, Hassoun SM, Adamczyk S, Tavernier B, Vallet B et al. Postconditioning in focal cerebral ischemia: Role of the mitochondrial ATP-dependent potassium channel. Brain Res. 2011;1375:137–146. doi: 10.1016/j.brainres.2010.12.054.

52. O'Sullivan JC, Yao XL, Alam H, McCabe JT. Diazoxide, as a postconditioning and delayed preconditioning trigger, increases HSP25 and HSP70 in the central nervous system following combined cerebral stroke and hemorrhagic shock. J Neurotrauma. 2007;24(3):532–546.

53. Щербак НС, Галагудза ММ, Овчинников ДА, Щербакова ЕО, Юкина ГЮ, Баранцевич ЕР и др. Влияние глобальной ишемии-реперфузии головного мозга на активность сукцинатдегидрогеназы в нейронах различных слоев неокортекса. Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. 2014;3:25–28. [Shcherbak NS, Galagoudza MM, Ovchinnikov DA, Shcherbakova EO, Yukina GYu, Barantsevich ER. Influence of cerebral global ischemia-reperfusion on succinate dehydrogenase activity in neurons of different neocortical layers. The Record of the I. P. Pavlov St Petersburg State Medical University. 2014;3:25–28. In Russian].

54. Щербак НС, Галагудза ММ, Юкина ГЮ, Баранцевич ЕР, Томсон ВВ, Шляхто ЕВ. Морфофункциональные изменения пирамидных нейронов различных полей гиппокампа при ишемическом посткондиционировании. Морфология. 2013;143(3):007–013.

55. Щербак НС, Галагудза ММ, Кузьменков АН, Овчинников ДА, Юкина ГЮ, Баранцевич ЕР. Морфофункциональные изменения зоны CA1 гиппокампа у монгольских песчанок при применении ишемического посткондиционирования. 2012;145(5):12–16.