

Влияние концентрации хлорида лития на его нейропротекторные свойства при ишемическом инсульте у крыс

Р. А. Черпаков*, О. А. Гребенчиков

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Effect of Lithium Chloride Concentration on Its Neuroprotective Properties in Ischemic Stroke in Rats

Rostislav A. Cherpakov*, Oleg A. Grebenchikov

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

Для цитирования: Р. А. Черпаков, О. А. Гребенчиков. Влияние концентрации хлорида лития на его нейропротекторные свойства при ишемическом инсульте у крыс. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 101–110. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-101-110> [На русск. и англ.]

For citation: Rostislav A. Cherpakov, Oleg A. Grebenchikov. Effect of lithium chloride concentration on its neuroprotective properties in ischemic stroke in rats. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 101–110. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-101-110> [In Russ. and Engl.]

Резюме

На сегодняшний день ряд экспериментальных исследований убедительно доказал наличие нейро-, кардио- и нефропротективных свойств у препаратов на основе лития хлорида.

Цель исследования. Оценить влияние различных концентраций хлорида лития на объем ишемического инсульта и перифокального отека у крыс после перенесенной ишемии головного мозга.

Методы исследования. В работе использовали беспородных крыс самцов массой 315±13,5 г. За основу взяли модель фокальной ишемии Лонга. Животных ($n=35$) разделили на 5 групп: ложно-оперированные, контрольная группа (модель ишемического инсульта с введением NaCl 0,9%) и три группы с введением хлорида лития в различных концентрациях (4,2 мг/кг, 21 мг/кг и 63 мг/кг). Хлорид лития вводили сразу после прекращения окклюзии средней мозговой артерии и далее каждые 24 ч до момента эвтаназии. Для оценки степени повреждения головного мозга на 2-е сутки животным выполнили магнитно-резонансную томографию (МРТ), а на 7-е сутки после эвтаназии произвели оценку срезов головного мозга, окрашенных 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом. Межгрупповые различия показателей оценивали при помощи критерия Манна–Уитни.

Результаты. По данным МРТ, хлорид лития в дозе 4,2 мг/кг значимо не влиял на объем ишемического инсульта и перифокального отека по отношению к контрольной группе через 2 суток ($p=0,9$). При использовании дозы 21 мг/кг объем инсульта ($p=0,04$) и перифокального отека был статистически значимо ниже ($p=0,03$), чем в контрольной группе (на 25 и 18% соответственно). Хлорид лития в дозе 63 мг/кг в большей степени уменьшал объем инсульта (на 45%, $p=0,004$) и перифокального отека (на 35%, $p=0,007$). При определении объема поражения на 7-е сутки данные были сопоставимы с результатами, полученными на 2-е сутки. При использовании дозы 21 мг/кг объем инсульта был ниже на 20% ($p=0,04$), чем в контрольной группе. Хлорид лития в дозе 63 мг/кг на 40% уменьшал объем инсульта ($p=0,004$).

Закключение. Таким образом, дозировка хлорида лития влияет на формирование некротического очага и проявления перифокального отека головного мозга после закупорки средней мозговой артерии. Максимальное уменьшение объема ишемического инсульта и перифокального отека отмечали при использовании концентрации 63 мг/кг.

Ключевые слова: хлорид лития; ишемический инсульт; нейропротекция; магнитно-резонансная томография; экспериментальное исследование

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Адрес для корреспонденции:

*Ростислав Александрович Черпаков
E-mail: Zealot333@mail.ru

Correspondence to:

*Rostislav A. Cherpakov
E-mail: Zealot333@mail.ru

Summary

Currently, a number of experimental studies have demonstrated compelling evidence of neuro-, cardio-, and nephroprotective properties of medications containing lithium chloride.

Aim of the study. To evaluate the effect of various concentrations of lithium chloride on ischemic stroke volume and perifocal edema in rats after cerebral ischemia.

Material and methods. Male mongrel rats weighing 315 ± 13.5 g were used in the study. The focal ischemia model according to Longa et al. was employed. The animals ($n=35$) were divided into 5 groups: sham-operated, control group (ischemic stroke model with NaCl 0.9% administration) and three groups who received lithium chloride in different concentrations (4.2 mg/kg, 21 mg/kg and 63 mg/kg). Lithium chloride was administered immediately after cessation of middle cerebral artery occlusion and then every 24 h until euthanasia. To assess the degree of brain damage, the animals underwent magnetic resonance imaging (MRI) on day 2, and brain sections stained with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride were evaluated after euthanasia on day 7. Intergroup differences were assessed using the Mann–Whitney criterion.

Results. According to MRI data, lithium chloride at a dose of 4.2 mg/kg had no significant effect on ischemic stroke volume and perifocal edema versus the control group on day 2 ($P=0.9$). With lithium chloride at 21 mg/kg, stroke volume and perifocal edema were significantly lower than in the control group (by 25%, $P=0.04$ and 18%, $P=0.03$, respectively). Lithium chloride at a dose of 63 mg/kg was more likely to reduce stroke volume (by 45%, $P=0.004$) and perifocal edema (by 35%, $P=0.007$). When determining lesion volume on day 7, the data were comparable to those obtained on day 2. With the 21 mg/kg dose, stroke volume was 20% lower than in the control group ($P=0.04$). Lithium chloride, 63 mg/kg, reduced stroke volume by 40% ($P=0.004$).

Conclusion. Lithium chloride dose affects necrotic focus formation and manifestations of perifocal cerebral edema after middle cerebral artery occlusion. The maximum reduction in the volume of ischemic stroke and perifocal edema was observed when the 63 mg/kg dose was used.

Keywords: lithium chloride; ischemic stroke; neuroprotection; magnetic resonance imaging; experimental study

Conflicts of interest. The authors declare no conflicts of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-101-110

Введение

Из всех болезней сердечно-сосудистой системы именно инсульт привлекает особенно пристальное внимание. Это связано как с высокой смертностью при данном заболевании [1], так и со стойкой инвалидизацией даже в случае своевременно оказанной медицинской помощи [2, 3]. Кроме того, отмечается рост частоты встречаемости данного заболевания как среди лиц молодого возраста, так и пожилого населения [4]. И если в отношении лиц старше 65 лет эскалация числа инсультов связана, прежде всего, с ростом продолжительности жизни населения и увеличением среднего возраста, как в развитых, так и в развивающихся странах [5], то при оценке распространенности данного заболевания среди лиц молодого возраста можно выделить несколько факторов [6]. Основными факторами принято считать поведенческие — низкая физическая активность, курение, злоупотребление алкоголем и психотропными веществами, и возрастные — беременность/послеродовой период, прием пероральных контрацептивов.

Однако независимо от причин, приведших к развитию инсульта [7], прогноз как для молодых, так и для пожилых пациентов остается достаточно сложным и зависящим от целого ряда причин [8], повлиять на которые либо крайне проблематично, либо невозможно. Прежде

Introduction

Of all the diseases of the cardiovascular system, stroke attracts particular attention. This is due to both high mortality in this disease [1] and persistent disability even in case of timely medical care [2, 3]. In addition, there is an increase in the incidence of this disease, in both young and the elderly population [4]. And if for persons over 65 years old the increase in rates of strokes is primarily related to the rise in life expectancy and average age in developed and developing countries [5], several factors can be identified when estimating the prevalence of this disease in the young age population [6]. Behavioral (low physical activity, smoking, alcohol and substance abuse) and age-related (pregnancy/postpartum period, taking oral contraceptives) ones are considered to be the main factors.

However, regardless of the causes leading to stroke [7], the prognosis for both young and elderly patients remain quite serious and depends on a variety of factors [8], which are either extremely difficult or impossible to control. These include the volume of damaged brain tissue, individual body reserves, collateral blood flow, and tolerance to ischemia [9]. The crucial factors of ischemic stroke outcome are timely diagnosis [10], timing of transportation to tertiary medical centers, and efficiency of reperfusion therapy [11]. The diversity of these issues determines the importance of searching for

всего, это объем поврежденной ткани головного мозга, индивидуальные резервы организма, степень развитости коллатерального кровотока и толерантность к ишемии [9]. Решающими факторами исхода ишемического инсульта являются: своевременная диагностика [10], сроки транспортировки в специализированные медицинские учреждения и эффективность реперфузионной терапии [11]. Разноплановость данных проблем определяет важность поиска препаратов, способных если не предотвратить, то, по крайней мере, значительно снизить процент летальности и инвалидизации.

Из всех препаратов, обладающих выраженным нейропротективным эффектом, отдельно стоит выделить карбонат лития, более 60 лет успешно применяемый при таких заболеваниях, как маниакально-депрессивные психозы и биполярные расстройства [12, 13]. Выявленные в клинической практике нейропротекторные эффекты солей лития нашли подтверждение в недавних экспериментальных исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo* (на моделях когнитивной дисфункции у крыс) [14, 15]. Особую значимость представляет работа Ming Ren (2003) и соавт. [16], где впервые коллективом авторов было показано влияние различных дозировок хлорида лития на объем ишемического инсульта. В данной работе применялась модель фокальной ишемии головного мозга с перекрытием средней мозговой артерии в течение часа и дальнейшей реперфузией. Хлорид лития вводился в дозах от 0,5 мEq/кг (~21 мг/кг) до 3 мEq/кг (~127 мг/кг) сразу после реперфузии, после чего спустя 23 часа с момента реканализации поврежденного участка мозга животные подвергались гуманной эвтаназии. Объем повреждения головного мозга оценивали с помощью окрашивания слоев 2% 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом. В контрольной группе объем инсульта составлял $290 \pm 12,5$ мм³, при этом даже применение минимальной из исследуемых концентраций значительно снижало объем повреждения головного мозга. В случае концентрации 21 мг/кг объем инсульта спустя 24 часа от инсульта составлял $210 \pm 14,5$ мм³, что было значимо ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,01$). В группах 42 мг/кг, 84 мг/кг и 127 мг/кг зона инсульта была так же значительно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,001$). При изучении влияния хлорида лития на модели глобальной ишемии головного мозга [17] и геморрагического инсульта [18] также были отчетливы показаны его нейропротекторные эффекты.

Однако в ранее проведенных исследованиях объем повреждения оценивали в остром эксперименте посмертно, что не давало полного представления о влиянии хлорида лития на динамику формирования очага инсульта и

drugs that can prevent or at least significantly reduce morbidity and mortality.

Among the drugs with a strong neuroprotective effect, lithium carbonate, which has been successfully used for more than 60 years for such diseases as bipolar disorder, is particularly noteworthy [12, 13]. The neuroprotective effects of lithium salts revealed in clinical practice have been confirmed in recent experimental studies both *in vitro* and *in vivo* (models of cognitive dysfunction in rats) [14, 15]. The work of Ming Ren (2003) et al. [16], who showed for the first time the effect of various doses of lithium chloride on ischemic stroke volume, is particularly relevant. In this study a model of focal cerebral ischemia after 1 hour long middle cerebral artery occlusion with subsequent reperfusion was used. Lithium chloride was administered in doses ranging from 0.5 mEq/kg (~21 mg/kg) to 3 mEq/kg (~127 mg/kg) immediately after reperfusion, followed by humane euthanasia 23 hours after recanalization of the damaged brain area. The volume of brain lesions was assessed by staining with 2% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride. In the control group, the stroke volume was 290 ± 12.5 mm³, and the administration of even lowest of the studied doses significantly reduced the extent of brain damage. At a dose of 21 mg/kg, the stroke volume 24 hours post stroke was 210 ± 14.5 mm³, which was significantly lower than in the control group ($P < 0.01$). In the groups receiving 42 mg/kg, 84 mg/kg, and 127 mg/kg, stroke area was similarly significantly lower than in the control group ($P < 0.001$). When studying the effects of lithium chloride in models of global cerebral ischemia [17] and hemorrhagic stroke [18] its neuroprotective effects were also clearly shown.

However, in earlier studies, the extent of damage was assessed postmortem in an acute experiment, which did not provide a complete view of the effect of lithium chloride on the evolution of stroke focus and perifocal edema, and also did not allow to estimate the delayed protective effects. Moreover, in 2003 [16], the 127 mg/kg dose which is nearly 4 times higher than the maximal tolerance dose for human use proved to be the most effective in terms of neuroprotection [19]. The «narrow therapeutic window» of lithium salts is well known, that is why it is so important, knowing their distinct dose-dependent effect, to determine its optimal concentration in blood plasma for neuroprotective properties on the one hand and to avoid toxic effects on the other hand.

Therefore, the aim of our study was to investigate the effect of various concentrations of lithium chloride on the volume of ischemic stroke and perifocal edema in rats post cerebral ischemia.

Materials and Methods

We used non-pedigreed male white rats weighing 315 ± 13.5 g. The model of endovascular occlusion of the

перифокального отека, а также не позволяло судить об отсроченных защитных эффектах. Кроме того, в работе 2003 года [16] наиболее эффективной в отношении нейропротекции показала себя доза 127 мг/кг, что почти в 4 раза превышало максимально разрешенную к применению дозу у человека [19]. Хорошо известно о достаточно «узком терапевтическом окне» у солей лития, поэтому так важно, зная их отчетливый дозозависимый эффект, определить его оптимальную концентрацию в плазме крови для реализации нейропротекторных свойств, с одной стороны, и возможности избегания токсических эффектов, с другой.

Цель исследования — изучение влияния различных концентраций хлорида лития на объем ишемического инсульта и перифокального отека у крыс после перенесенной ишемии головного мозга.

Материал и методы

В работе использовали беспородных самцов белых крыс массой 315±13,5 г. За основу взяли модель эндovasкулярной окклюзии средней мозговой артерии (фокальная ишемия) по E. Z. Longa [20]. Для предотвращения влияния субъективного фактора при формировании экспериментальных групп отбор животных осуществляли с помощью метода модифицированной блочной рандомизации. Всех животных, включенных в исследование, случайным образом помещали в ячейки блока рандомизации. После этого, пользуясь генератором случайных чисел, формировали перечень данных с номерами ячеек с и соответствующие им номера групп, куда в дальнейшем были размещены крысы.

В итоговую оценку входили только животные, выжившие на протяжении 7 дней. Животных, погибших в процессе эксперимента, не учитывали при анализе объема поражения головного мозга и исключали из группы.

На всех этапах животных маркировали посредством нанесения перманентным маркером отметки на основание хвоста. В соответствии с отметкой каждому включенному в исследование животному был присвоен соответствующий номер.

Животных разделили на 5 групп. Группа I ($n=7$, средняя масса 302,5±12,3 г) была представлена ложнооперированными животными, которым в качестве оперативного вмешательства выполнили срединный разрез кожи по линии проекции трахеи и выделили артерию, после чего послеоперационную рану послойно ушили, а шов обработали антисептиком. Группа II являлась контрольной ($n=7$, средняя масса 306±11,2 г), животных подвергали фокальной церебральной ишемии путем окклюзии средней мозговой артерии. Сразу после прекращения ишемии животным внутривенно вводили раствор NaCl 0,9% из расчета 1,5 мл/кг. Группа III ($n=7$, средняя масса 304±12,7 г) — одновременно с прекращением ишемии животным внутривенно вводили хлорид лития в дозе 4,2 мг/кг, с дальнейшим введением препарата в исследуемой дозе каждые 24 часа. Группа IV ($n=7$, средняя масса 305±11,5 г) — после снятия сосудистого зажима

middle cerebral artery (focal ischemia) according to E. Z. Longa [20] was used. To prevent subjective factor influence when forming experimental groups, animals were selected using modified block randomization method. All animals included in the study were randomly placed in randomization block cells. After that, a random number generator was used to form a data list with the numbers of cells and corresponding numbers of groups where the rats were subsequently placed.

Only animals that survived for 7 days were included in the final evaluation. Animals that died during the experiment were not included in the analysis of brain damage volume and were excluded from the group.

At all stages, animals were labeled by marking the base of the tail with a permanent marker. In accordance with the marking, each animal included in the study was assigned an appropriate number.

The animals were divided into 5 groups. Group 1 ($n=7$, mean weight 302.5±12.3 g) included sham-operated animals, which underwent a midline skin incision along the trachea projection line and whose artery was isolated as a surgical intervention with subsequent layered closure of the wound and antiseptic treatment. Group 2 was a control group ($n=7$, mean weight 306±11.2 g); the animals underwent focal cerebral ischemia by occluding the middle cerebral artery. Immediately after cessation of ischemia, the animals received intravenous 0.9% NaCl solution 1.5 ml/kg. Group 3 ($n=7$, mean weight 304±12.7 g) animals immediately after ischemia cessation animals received intravenous lithium chloride at a dose of 4.2 mg/kg, followed by the same dose of drug every 24 hours. Group 4 ($n=7$, mean weight 305±11.5 g) animals after removal of vascular clamp had lithium chloride 21 mg/kg injection, followed by the same dose of drug every 24 hours. Group 5 ($n=7$, mean weight 309±10.5 g) animals received intravenous lithium chloride, 63 mg/kg, immediately after cessation of focal ischemia and later once every 24 hours for 7 days.

The dosages of lithium chloride used were selected based on the available data on acute and chronic toxicity of the drug [13].

Induction anesthesia was performed by injecting 12% chloral hydrate solution 300 mg/kg into the peritoneum. The surgical field was sterilized with 0.05% chlorhexidine solution. After that, a midline incision was made in the neck, and the common carotid artery (CCA), external carotid artery (ECA), and internal carotid artery (ICA) were isolated from the right side. The CCA was clamped with a vascular clip, and a 3–0 Vicryl ligature was placed to the ICA. The ECA was cut with scissors 3–5 mm from the bifurcation. A 0.25 mm nylon thread coated with silicone and treated with heparin solution was inserted through a section of ECA into ICA to the depth of 19–21 mm (until the MCA was occluded) and fixed with a vascular clip (MCA occlusion). The blood flow was blocked for 60 min, then the suture was extracted, which restored the blood supply in the MCA region. After that, the ECA stump was coagulated to complete tightness and the vascular clips were subsequently removed. At the end of the operation, the incision was sutured with 4–0 Vicryl and treated with 5% brilliant green dye. After the operation, body temperature monitoring was performed aimed at maintaining physiological values using infrared lamps until independent thermoregulation was restored in the animal. During the operation the body temperature was maintained at 37±0.5°C using an electric heating pad. The av-

крысам вводили хлорид лития в дозе 21 мг/кг с последующим введением указанной дозы раз в 24 часа. Группа V ($n=7$, средняя масса $309 \pm 10,5$ г) — животным сразу после прекращения фокальной ишемии, и далее в течение 7 суток один раз в 24 часа вводили хлорид лития в дозе 63 мг/кг.

Применяемые дозировки хлорида лития были подобраны на основании имеющихся данных об острой и хронической токсичности препарата [13].

Вводную анестезию проводили путем инъекции в брюшину 12% раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг. Поле операции обрабатывали раствором хлоргексидина 0,05%. После этого выполняли срединный разрез в области шеи, с правой стороны выделяли общую сонную артерию (ОСА), внешнюю сонную артерию (ВНСА) и внутреннюю сонную артерию (ВСА). ОСА пережимали сосудистой клипсой, на ВСА накладывали лигатуру из викрила №3. ВНСА перерезали ножницами на расстоянии 3–5 мм от бифуркации. Нейлоновую нить диаметром 0,25 мм, покрытую силиконом и обработанную раствором гепарина, вводили через отрезок ВНСА во ВСА на глубину 19–21 мм (до момента перекрытия СМА) и фиксировали сосудистой клипсой (ОСМА). Кровоток перекрывали на 60 мин, после чего нить извлекали, что восстанавливало кровоснабжение в бассейне СМА. После этого культю ВНСА закрывали коагуляцией до полной герметичности и в дальнейшем снимали сосудистые клипсы. В конце операции разрез ушивали викрилом №4 и обрабатывали 5% раствором бриллиантового зеленого. После операции выполняли непрерывную термометрию с поддержанием температуры на уровне физиологической нормы с помощью инфракрасных ламп, до восстановления самостоятельной терморегуляции у животного. Во время операции температуру тела поддерживали на уровне $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ с помощью электрической грелки. Среднее время проведения операции составило 7–10 мин. Ложнооперированных животных (ЛО) подвергали тем же процедурам за исключением введения силиконовой нити в просвет ВНСА.

Введение NaCl 0,9% в контрольной группе и хлорида лития в группах III, IV и V осуществляли внутривенно однократно сразу после снятия сосудистых клипс. В последующие дни эксперимента препарат вводили один раз в сутки до момента эвтаназии.

Оценку объема повреждения тканей головного мозга проводили с использованием магнитно-резонансной томографии (на 2-е сутки) и с помощью сканирования срезов головного мозга, окрашенных 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом (TTC-метод) после эвтаназии (на 7-е сутки).

Перед помещением в аппарат магнитно-резонансной томографии лабораторным животным проводили седацию путем ингалирования 1,5–2,0 об% Изофлурана. Далее животное помещали в устройство позиционирования с системой стереотаксиса и терморегуляции. Все импульсные последовательности предварительно отработали и оптимизировали на фантомах. Для передачи радиочастотного (РЧ) сигнала использовали линейный трансмиттер с внутренним диаметром 72 мм, для детекции РЧ-сигнала — поверхностную приемную катушку для мозга крысы. Использовали следующие импульсные последова-

erage time of the operation was 7–10 minutes. Sham-operated animals underwent the same procedures except for the introduction of a silicone thread into the ECA lumen.

Normal saline in the control group and lithium chloride in groups 3, 4 and 5 were administered intravenously immediately after the vascular clips were removed. On the following days of the experiment the drug was administered once a day until euthanasia.

The extent of brain tissue damage was assessed by magnetic resonance imaging (on day 2) and by scanning the brain sections stained with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC-method) after euthanasia (on day 7).

The laboratory animals were sedated by inhalation of 1.5–2.0 vol% Isoflurane before placement in the MRI machine. The animals were then placed in a positioning device with a stereotaxis and thermoregulation system. All pulse sequences were pre-tested and optimized on dummies. A linear transmitter with an internal diameter of 72 mm was used to transmit the radiofrequency (RF) signal, and a surface receiving coil for the rat brain was used to detect the RF signal. The following pulse sequences (PS) were used: RARE - spin echo-based PS with TR 6000 ms, TE 63.9 ms, slice thickness 0.5 mm, matrix size 256×384 , resolution 0.164×0.164 mm/pixel. Total scanning time per animal was about 25 minutes.

On day 7 after ischemia, animals were given an increased dose of chloral hydrate and decapitated. The brain was removed from the cranium and rinsed in normal saline, then cut into 2-mm-thick coronal sections using a special mold with grooves for precise cutting. Sections were stained with 1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC, «Sigma») solution in buffer with pH 7.4 for 10 minutes at 37°C and fixed in 10% formalin solution in buffer. To obtain images, the sections were scanned from both sides on an HP Scanjet 4500c scanner (2400 dpi resolution).

Digital images of brain sections stained with TTC or T2-weighted magnetic resonance images (MR images) were used for morphometric assessment of the ischemic focus area and the volume of ischemic injury. Digital images were analyzed using ImageJ (NIH, Bethesda, USA) medical image analysis freeware. Separate measurements of total infarct area, cortex, and subcortical structures were used for each section. Areas not stained with TTC were considered to be necrotic. The 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride itself is white, but under the action of cellular dehydrogenases it turns red due to reduction, which clearly delineates the dead tissue zone.

The volume of ischemic infarction (V) was determined using the formula:

$$V = \sum A \times d$$

where V — volume; $\sum A$ — sum of the areas of all MR-sections; d — width of sections.

Also, percentage of cerebral edema was determined using the formula:

$$\% \text{ cerebral edema} = ((S_{ih} - S_{ch}) / S_{ch}) \times 100$$

where S_{ih} — area of the ipsilateral hemisphere, S_{ch} — area of the contralateral hemisphere. The volume of ischemic lesion for each group was normalized to the mean value of infarct volume in the MCA occlusion + normal saline group.

Five minutes after lithium chloride injection and 1, 4, and 24 hours later, the drug concentration in plasma was measured to determine a safe dosage based on the available data on the threshold toxic concentration for humans (2.5 mmol/l).

Таблица 1. Объем зон повреждения головного мозга на 2-е и 7-е сутки после инсульта при различных концентрациях хлорида лития, Q2 (Q1–Q3).

Table 1. Volume of brain damage zones on day 2 and day 7 after stroke at various doses of lithium chloride, Q2 (Q1–Q3).

Group	Values on the study stages					
	Day 2			Day 7		
	Stroke volume, mm ³	P	Perifocal edema volume, mm ³	P	Stroke volume, mm ³	P
Control	235,0 (180,5–261,0)	—	110,0 (101,5–118,0)	—	200,0 (170,5–256,0)	—
Lithium chloride 4.2 mg/kg	218,0 (199,5–250,5)	0,9	104,0 (100,5–109,0)	0,9	188,5 (168,0–235,0)	0,9
Lithium chloride 21 mg/kg	175,5 (154,5–180,0)	0,04*	89,5 (79,5–95,0)	0,03*	158,0 (125,0–175,5)	0,045*
Lithium chloride 63 mg/kg	128,5 (119,0–143,5)	0,004*	71,0 (68,0–78,0)	0,007*	118,0 (102,0–133,0)	0,037*

Note. * Differences versus controls are significant (Mann–Whitney *U*-test) at *P*<0.05.

Примечание. Values on the study stages — значения на этапах исследования; stroke volume — объем инсульта; perifocal edema volume — объем перифокального отека. * — различия в сравнении с контролем статистически значимы (*U*-критерий Манна–Уитни) при *p*<0,05.

тельности (ИП): RARE — ИП на основе спинового эха с параметрами: TR=6000 мс, TE=63,9 мс, толщина среза 0,5 мм, размер матрицы 256×384, разрешение 0,164×0,164 мм/пиксел. Общее время сканирования одного животного составило около 25 минут.

На 7-е сутки после ишемии животным вводили повышенную дозу хлоралгидрата и выполняли декапитацию. Мозг извлекали из черепной коробки и промывали в физиологическом растворе, после чего разрезали на корональные срезы толщиной 2 мм с помощью специальной формы с пазами для точной резки. Срезы окрашивали 1% раствором 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТС, «Sigma») в буферном растворе с pH 7,4 в течение 10 минут при 37°С и фиксировали в растворе 10% формалина в буферном растворе. Для получения изображений срезы сканировали с обеих сторон на сканере hp scanjet 4500с (разрешение 2400 dpi).

Для морфометрического измерения площади очага и объема ишемического повреждения использовали цифровые изображения срезов мозга, окрашенных ТТС или T2-взвешенные магнитно-резонансные изображения (MP-изображение). Анализ цифровых изображений проводили с помощью свободно распространяемой программы анализа медицинских изображений «ImageJ» (НИН, Бетесда, США). Для каждого среза использовали отдельные измерения общей площади инфаркта, коры и подкорковых структур. Неокрашенные ТТС участки принимали как некротические зоны. Сам 2,3,5-трифенилтетразолий хлористый имеет белый цвет, однако под влиянием клеточных дегидрогеназ окрашивается в красный цвет в результате восстановления, что позволяет четко отделить зону погибших тканей.

Объем ишемического инфаркта (*V*) определяли по формуле:

$$V = \sum A \times d$$

где: *V* — объем; $\sum A$ — сумма площадей всех МР-срезов; *d* — ширина срезов.

Также определили % отека мозга по формуле:

$$\% \text{ отека мозга} = ((S_{ип} - S_{кп}) / S_{кп}) \times 100$$

где: *S_{ип}* — площадь ипсилатерального полушария, *S_{кп}* — площадь контралатерального полушария. Объем ишемического повреждения для каждой группы нормализовали на среднее значение объема инфаркта в группе ОСМА+Физ р-р.

Спустя 5 минут после введения хлорида лития, а также через 1, 4 и 24 часа оценивали концентра-

цию (Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) and MedCalc 12.5.0.0 (MedCalc Software bvba) were used for statistical analysis. Quantitative data were reported as medians (Q2) and interquartile range (Q3–Q1). Intergroup differences were assessed using the Mann–Whitney test and were considered significant at *P*<0.05.

Results and Discussion

The MRI performed on day 2 after ischemia episode showed that the stroke volume significantly differed from the control group only when lithium chloride was administered at doses of 21 mg/kg and 63 mg/kg.

The results obtained when assessing the volume of brain damage on day 2 are presented in Table 1. Stroke volume in the 4.2 mg/kg group was 7.8% lower than in the control group, and perifocal edema volume was 5.7% lower. In the group receiving the drug at 21 mg/kg, the stroke volume was reduced by 25.5% and perifocal edema by 18.6%. In the group receiving lithium chloride at a dose of 63 mg/kg, the stroke volume was reduced by 43.5% and perifocal edema by 35.4%.

The brain lesion areas on MRI on day 2 are shown in Figure.

Lithium chloride at doses of 21 mg/kg and 63 mg/kg significantly reduced the volume of the damage, whereas no significant difference was observed, when a dose of 4.2 mg/kg was administered.

The results obtained when assessing the stroke volume on day 7 are presented in Table 1.

In animals receiving lithium chloride at a dose of 4.2 mg/kg, the damaged area was 5.7% smaller than in the control group. The volume of damaged tissue was 21% less with the dose of 21 mg/kg and 41% less when the the dose of 63 mg/kg was used.

When determining the concentration of lithium chloride in the blood of animals, we found that the dose of 63 mg/kg was associated with the borderline toxic blood level (2.5 mmol/L) 5 minutes after administration. However, as early as one hour later, the blood concentration of the drug decreased again to a safe level. Separately, it should

цию препарата в плазме животных с целью определения безопасной дозировки исходя из имеющихся данных о пороговой токсической концентрации для человека (2,5 ммоль/л).

Для статистического анализа использовали программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) и MedCalc 12.5.0.0 (MedCalc Software bvba). Количественные данные представляли медианой (Q_2) и межквартильным интервалом (Q_3-Q_1). Межгрупповые различия показателей оценивали при помощи U -критерия Уитни-Манна и принимали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке результатов магнитно-резонансной томографии на 2-е сутки после перенесенной ишемии объем инсульта значимо отличался от контрольной группы только при введении хлорида лития в дозах 21 мг/кг и 63 мг/кг.

Результаты, полученные при оценке объема повреждения головного мозга на 2-е сутки, представили в табл. 1. Объем инсульта в группе 4,2 мг/кг был на 7,8% меньше, чем в контрольной группе, а объем перифокального отека — на 5,7%. При использовании концентрации 21 мг/кг объем инсульта снижался на 25,5%, а перифокальный отек — на 18,6%. В группе хлорида лития в дозе 63 мг/кг объем инсульта снижался на 43,5%, а перифокального отека — на 35,4%.

Зоны поражения головного мозга на МРТ-изображениях через 2 суток представили на рисунке.

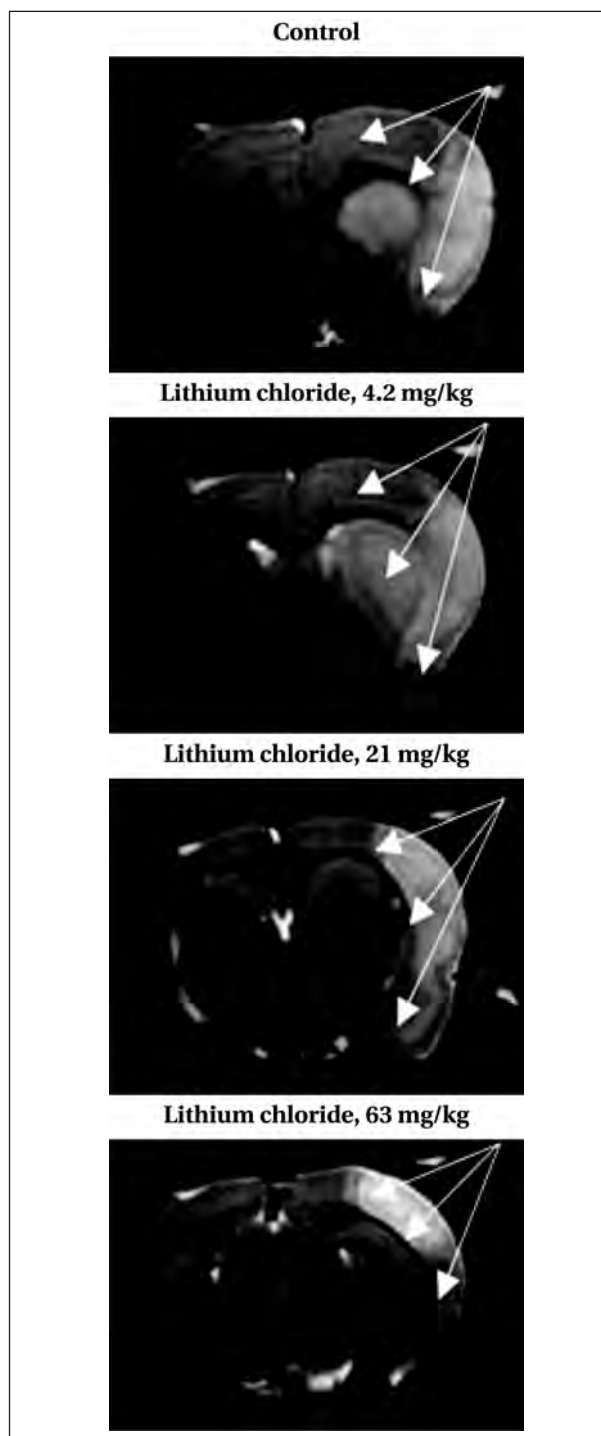
Хлорид лития в дозах 21 мг/кг и 63 мг/кг значимо уменьшал объем повреждения, в то время как при введении дозы 4,2 мг/кг значимой разницы не отмечали.

Результаты, полученные при оценке объема инсульта на 7-е сутки, представили в табл. 1. В группе хлорида лития в дозе 4,2 мг/кг зона повреждения была на 5,7% меньше, чем в контрольной группе. При использовании дозы 21 мг/кг объем поражения был меньше на 21%, а при дозе 63 мг/кг — на 41%.

При определении концентрации хлорида лития в крови животных выявили, что при используемых в рамках эксперимента концентрациях только доза 63 мг/кг через 5 минут после введения достигала пограничного токсического значения (2,5 ммоль/л). Однако уже спустя час концентрация в крови вновь снижалась до безопасной. Отдельно стоит указать, что от применения хлорида лития в дозе 84 мг/кг было решено воздержаться в виду превышения пороговой токсической концентрации как спустя 5 минут, так и спустя 1 час.

Данные по концентрации хлорида лития в плазме представили в табл. 2.

В ходе эксперимента отдельно оценивали летальность в группах, однако ее анализ не



Зона ишемического инсульта через 2-е суток после окклюзии средней мозговой артерии. МРТ (T2-взвешенные изображения).

Ischemic stroke area 2 days post middle cerebral artery occlusion. MRI (T2-weighted images).

Note. White arrows delineate the brain lesion.

Примечание. Белыми стрелками указаны границы повреждения головного мозга.

be noted that we decided to avoid using lithium chloride at a dose of 84 mg/kg due to exceeding the threshold toxic concentration both after 5 minutes and after 1 hour.

**Таблица 2. Концентрация хлорида лития (ммоль/л) в крови после однократного введения, Q2 (Q1–Q3).
Table 2. Blood lithium chloride concentration (mmol/L) after a single injection of the drug, Q2 (Q1–Q3).**

Lithium chloride dose	Lithium chloride (mmol/L) in blood at different periods after injection			
	after 5 min	after 1 hour	after 4 hours	after 24 hours
4.2 mg/kg (0.1 ml/kg)	0.7 (0.5–0.8)	0.5 (0.3–0.6)	Not detectable	Not detectable
21 mg/kg (0.5 ml/kg)	1.7 (1.5–1.8)	1.2 (1.1–1.3)	0.5 (1.3–1.6)	Not detectable
63 mg/kg (1.5 ml/kg)	2.5 (2.2–2.6)	2.0 (1.8–2.2)	1.0 (0.8–1.1)	0.1 (0–0.2)
84 mg/kg (2.0 ml/kg)	3.7 (3.5–3.9)	3.3 (3.1–3.5)	2.6 (2.1–2.7)	0.2 (0.1–0.3)

Примечание. In blood at different periods after injection — в крови в разное время после введения.

являлся приоритетной целью в данном исследовании. В контрольной группе она составила 58,8% (из 17 животных погибло 10). В группе III из 16 животных погибло 9 (56,25%, $\chi^2=0,022$, $p=0,882$ по отношению к контрольной группе). Летальность в группе IV составила 36,3% (из 11 животных погибло 4, $\chi^2=1.348$, $p=0,246$ по отношению к контрольной группе), в группе V она была минимальной и составила 30% (погибло 3 из 10 животных, $\chi^2=2,095$, $p=0,148$ по отношению к контрольной группе).

На сегодняшний день достаточно хорошо известны молекулярные механизмы нейропротекторного эффекта солей лития. [10]. Первый механизм — это прямое ингибирование основного фермента в реализации механизма ишемического и фармакологического preconditionирования — гликоген-синтазы-киназы 3бета (ГСК-3 β) [21]. Второй механизм — инактивация NMDA-рецепторов, что приводит к снижению активности проапоптотического белка p53 и повышение активности анти-апоптотических белков Bcl2 [13]. Третий механизм — активация сигнального пути PI3K/Akt, отвечающего за выживание клетки [22].

Плейотропный механизм реализации нейропротекторного эффекта солей лития позволяет надеется, что его использование улучшит результаты лечения ишемического инсульта. Так же стоит отметить, что в отношении карбоната лития уже накоплен достаточно обширный клинический опыт. Применения карбоната лития в рамках терапии маниакально-депрессивных состояний позволило весьма подробно оценить его влияние на частоту развития инсультов в данной группе пациентов, которая, по имеющимся данным, значительно выше, нежели у остальных людей [23]. При сравнении с группами пациентов, принимающих стандартную терапию на основе антипсихотиков и антидепрессантов, частота развития инсульта среди получавших терапию карбонатом лития была значимо ниже. По данным проведенных исследований в случае стандартной терапии инсульт развивался у 5,4% пациентов, в то время как на фоне приема карбоната лития его частота не превышала 2,8%, что было статистически

Data on plasma lithium chloride concentration are shown in Table 2.

During the experiment, mortality was evaluated separately in the groups, but its analysis was not a priority of our study. In the control group the mortality rate was 58.8% (10 out of 17 animals died). In group 3, 9 animals out of 16 died (56.25%, $\chi^2=0.022$, $P=0.882$ versus the control group). The mortality rate in group 4 was 36.3% (4 out of 11 animals died, $\chi^2=1.348$, $P=0.246$ versus the control group), in group 5 it was minimal and reached 30% (3 out of 10 animals died, $\chi^2=2.095$, $P=0.148$ versus the control group).

Currently, the molecular mechanisms of the neuroprotective effect of lithium salts are well known [10]. The first mechanism is the direct inhibition of glycogen synthase kinase 3beta (GSK-3 β), the main enzyme in ischemic and pharmacological preconditioning [21]. The second mechanism is inactivation of NMDA-receptors, which leads to decrease of pro-apoptotic protein p53 activity and increase in anti-apoptotic proteins Bcl2 activity [13]. The third mechanism is the activation of PI3K/Akt signaling pathway responsible for cell survival [22].

The multifaceted mechanism of realization of the neuroprotective effect of lithium salts suggests that its use will improve the results of treatment of ischemic stroke. Moreover, there is a considerable clinical experience with lithium carbonate use. Administration of lithium carbonate in bipolar disorders has allowed to estimate its effect on stroke incidence in this group of patients, which, Whitney-according to available data, is much higher than in other populations [23]. When compared with patients on standard therapy based on antipsychotics and antidepressants, the incidence of stroke among those receiving lithium carbonate therapy was significantly lower. According to studies, with standard therapy, stroke developed in 5.4% of patients, while in those on lithium carbonate its incidence did not exceed 2.8%, which was significantly lower ($P<0.05$) [24, 25]. Also, Mohammadianinejad S. E. [26] and Sun Y. R. [27] have shown improvement of motor functions in post stroke patients administered with lithium carbonate.

значимо ($p < 0,05$) меньше. [24, 25]. Так же в работах S. E. Mohammadianinejad [26] и Y. R. Sun [27] было отмечено улучшение моторных функций у пациентов, перенесших инсульт и принимавших после этого карбонат лития.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать два вывода. Во-первых, хлорид лития обладает нейропротекторным действием, как в раннем (2-е сутки), так и в отсроченном (7-е сутки) постинсультном периоде, значимо уменьшая размер инсульта и перифокального отека. Во-вторых, данный эффект является дозозависимым, в полной мере проявляясь при использовании концентрации 21 мг/кг и 63 мг/кг, и никак не влияя на объем поражения в дозе 4,2 мг/кг.

В то же время при сравнении с ранее исследуемыми концентрациями [16] было показано, что реализация нейропротекторного эффекта хлорида лития возможна без превышения токсической концентрации. Кроме того, в ранее проведенных работах [23, 28, 29] оптимальные дозы для реализации кардио- и нефропротекторного эффекта составили 30 мг/кг. Хорошо известно о достаточно «узком терапевтическом окне» у солей лития, поэтому так важно, зная их отчетливый дозозависимый эффект, определить оптимальную концентрацию солей лития в плазме крови для реализации их нейропротекторных свойств, с одной стороны, и возможности предупреждения токсических эффектов — с другой.

Литература

1. Thrift A.G., Thayabaranathan T., Howard G., Howard V.J., Rothwell P.M., Feigin V.L., Norrving B., Donnan G.A., Cadilhac D.A. Global stroke statistics. *Int J Stroke*. 2017; 12 (1): 13–32. DOI: 10.1177/1747493016676285 PMID: 27794138
2. Cai W., Mueller C., Li Y.J., Shen W.D., Stewart R. Post stroke depression and risk of stroke recurrence and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2019; 50: 102–109. DOI: 10.1016/j.arr.2019.01.013 PMID: 30711712
3. Парфенов А.Л., Петрова М.В., Пичугина И.М., Лугинина Е.В. Формирование коморбидности у пациентов с тяжелым повреждением мозга и исходом в хроническое критическое состояние (обзор). *Общая реаниматология*. 2020; 16 (4): 72–89. DOI 10.15360/1813-9779-2020-4-72-89
4. Hall E.W., Vaughan A.S., Ritchey M.D., Schieb L., Casper M. Stagnating National Declines in Stroke Mortality Mask Widespread County-Level Increases, 2010–2016. *Stroke*. 2019; 50 (12): 3355–3359. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.026695 PMID: 31694505
5. Sharrief A., Grotta J.C. Stroke in the elderly. *Handb Clin Neurol*. 2019; 167: 393–418. DOI: 10.1016/B978-0-12-804766-8.00021-2 PMID: 31753145
6. Hathidara M.Y., Saini V., Malik A.M. Stroke in the Young: a Global Update. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2019; 19 (11): 91. DOI: 10.1007/s11910-019-1004-1 PMID: 31768660
7. Голубев А.М. Модели ишемического инсульта (обзор). *Общая Реаниматология*. 2020; 16 (1): 59–72 DOI: 10.15360/1813-9779-2020-1-59-72
8. Wu Q., Tang A.J., Zeng L., Niu S.Z., Tian M.M., Jin A.P., Yang H.Y., Chen J.J., Xiao-Ping Z., Shi Y. Prognosis of Neurological Improvement in Inpatient Acute Ischemic Stroke Survivors: A Propensity Score Matching Analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2021; 30 (1): 105437. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105437 PMID: 33197800
9. Sennfält S., Pihlgård M., Norrving B., Ullberg T., Petersson J. Ischemic stroke patients with prestroke dependency: Characteristics and long-term prognosis. *Acta Neurol Scand*. 2021; 143 (1): 78–88. DOI: 10.1111/ane.13328 PMID: 32738814

Conclusion

The results have led us to two conclusions. First, lithium chloride has a neuroprotective effect both in the early (day 2) and in the delayed (day 7) poststroke period, significantly reducing the size of the stroke and perifocal edema. Secondly, this effect is dose-dependent, being fully manifested at doses of 21 mg/kg and 63 mg/kg and having no effect on the brain lesion volume when administered at a dose of 4.2 mg/kg.

At the same time, when comparing with the previously studied plasma concentrations [16], the neuroprotective effect of lithium chloride was shown to develop without exceeding the toxic concentration. Moreover, in earlier studies [23, 28, 29], the optimal doses for implementation of cardio- and nephroprotective effect were 30 mg/kg. The «narrow therapeutic window» of lithium salts is well known, so in view of their distinct dose-dependent effect it is important to determine the optimal plasma concentration of lithium salts to implement their neuroprotective properties on the one hand and prevent toxic effects on the other hand.

The newly obtained knowledge warrants the prospects for developing a novel drug formulation (intravenous lithium chloride) for the treatment of cerebrovascular accidents.

Полученные новые знания позволяют, как нам представляется, рассмотреть перспективы создания нового лекарственного средства (раствор лития хлорида для внутривенного введения) для лечения острых церебральных катастроф.

References

1. Thrift A.G., Thayabaranathan T., Howard G., Howard V.J., Rothwell P.M., Feigin V.L., Norrving B., Donnan G.A., Cadilhac D.A. Global stroke statistics. *Int J Stroke*. 2017; 12 (1): 13–32. DOI: 10.1177/1747493016676285 PMID: 27794138
2. Cai W., Mueller C., Li Y.J., Shen W.D., Stewart R. Post stroke depression and risk of stroke recurrence and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2019; 50: 102–109. DOI: 10.1016/j.arr.2019.01.013 PMID: 30711712
3. Parfenov A.L., Petrova M.V., Pichugina I.M., Lugina E.V. Comorbidity Development in Patients with Severe Brain Injury Resulting in Chronic Critical Condition (Review). *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2020; 16 (4): 72–89 [In Russ.]. DOI 10.15360/1813-9779-2020-4-72-89
4. Hall E.W., Vaughan A.S., Ritchey M.D., Schieb L., Casper M. Stagnating National Declines in Stroke Mortality Mask Widespread County-Level Increases, 2010–2016. *Stroke*. 2019; 50 (12): 3355–3359. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.026695 PMID: 31694505
5. Sharrief A., Grotta J.C. Stroke in the elderly. *Handb Clin Neurol*. 2019; 167: 393–418. DOI: 10.1016/B978-0-12-804766-8.00021-2 PMID: 31753145
6. Hathidara M.Y., Saini V., Malik A.M. Stroke in the Young: a Global Update. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2019; 19 (11): 91. DOI: 10.1007/s11910-019-1004-1 PMID: 31768660
7. Golubev A.M. Models of Ischemic Stroke (Review). *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2020; 16 (1): 59–72 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-1-59-72
8. Wu Q., Tang A.J., Zeng L., Niu S.Z., Tian M.M., Jin A.P., Yang H.Y., Chen J.J., Xiao-Ping Z., Shi Y. Prognosis of Neurological Improvement in Inpatient Acute Ischemic Stroke Survivors: A Propensity Score Matching Analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2021; 30 (1): 105437. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105437 PMID: 33197800
9. Sennfält S., Pihlgård M., Norrving B., Ullberg T., Petersson J. Ischemic stroke patients with prestroke dependency: Characteristics and long-term prognosis. *Acta Neurol Scand*. 2021; 143 (1): 78–88. DOI: 10.1111/ane.13328 PMID: 32738814

10. Голубев А.М., Петрова М.В., Гречко А.В., Захарченко В.Е., Кузовлев А.Н., Еришов А.В. Молекулярные маркеры ишемического инсульта. *Общая Реаниматология*. 2019; 15 (5): 11–22. DOI 10.15360/1813-9779-2019-5-11-22
11. D'Alton M., Coughlan T., Cogan N., Greene S., McCabe D.J.H., McCarthy A., Murphy S., Walsh R., O'Neill D., Kennelly S., Ryan D., Collins R. Patterns of mortality in modern stroke care. *Ir Med J*. 2018; 111 (5): 750. PMID: 30489045
12. 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
13. 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 PMID: 25365484
14. 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 PMID: 30210290
15. Wang Y., An X., Zhang X., Liu J., Wang J., Yang Z. Lithium chloride ameliorates cognition dysfunction induced by sevoflurane anesthesia in rats. *FEBS Open Bio*. 2019; 10 (2): 251–258. DOI: 10.1002/2211-5463.12779. PMID: 31867790
16. 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
17. 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; 177 (2): 282–289. DOI: 10.1016/j.bbr.2006.11.021 PMID: 17210190
18. 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 PMID: 30336136
19. McKnight R.F., Adida M., Budge K., Stockton S., Goodwin G.M., Geddes J.R. Lithium toxicity profile: a systematic review and metaanalysis. *Lancet*. 2012; 379 (9817): 721–728. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61516-X PMID: 22265699
20. Longa E.Z., Weinstein P.R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989; 20 (1): 84–91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84 PMID: 2643202
21. Juhaszova M., Zorov D.B., Yaniv Y. Role of glycogen synthase kinase-3 β in cardioprotection. *Circ Res*. 2009; 104 (11): 1240–1252. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.197996 PMID: 19498210
22. Острова И.В., Гребенчиков О.А., Голубева Н.В. Нейропротективное действие хлорида лития на модели остановки сердца у крыс. *Общая реаниматология*. 2019; 15 (3): 73–82. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
23. Santos C.O., Caeiro L., Ferro J.M., Figueira M.L. Mania and stroke: a systematic review. *Cerebrovasc Dis*. 2011; 32 (1): 11–21. DOI: 10.1159/000327032 PMID: 21576938
24. 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 PMID: 26394555
25. Bosche B., Molcanyi M., Rej S., Doepfner 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 PMID: 27999548
26. 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
27. 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: exploratory analyses of neuroanatomical and cognitive outcomes. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2019; 39 (1): 67–71. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000981 PMID: 30566418
28. Гребенчиков О.А., Лобанов А.В., Шайхутдинова Э.Р., Кузовлев А.Н., Еришов А.В., Лихванцев В.В. Кардиопротекторные свойства хлорида лития на модели инфаркта миокарда у крыс. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2019; 23 (2): 43–49. DOI: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49
29. Черпаков Р.А., Гребенчиков О.А., Плотников Е.Ю., Лихванцев В.В. Сравнительная эффективность фармакологического preconditionирования на основе даларгина и лития на модели гентамициновой нефротоксичности. *Анестезиология и реаниматология*. 2015; 60 (1): 58–63. PMID: 26027228
10. Golubev A.M., Grechko A.V., Govorukhina M.A., Zakharchenko V.E., Kuzovlev A.N., Petrova M.V. Molecular Markers of Hemorrhagic Stroke. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2019; 15 (5): 11–22 [In Russ.]. DOI 10.15360/1813-9779-2019-5-11-22
11. D'Alton M., Coughlan T., Cogan N., Greene S., McCabe D.J.H., McCarthy A., Murphy S., Walsh R., O'Neill D., Kennelly S., Ryan D., Collins R. Patterns of mortality in modern stroke care. *Ir Med J*. 2018; 111 (5): 750. PMID: 30489045
12. 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
13. 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. *Biokhimiya=Biochemistry (Moscow)*. 2014; 79 (8): 932–943 [In Russ.]. DOI: 10.1134/S0006297914080021 PMID: 25365484
14. 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 PMID: 30210290
15. Wang Y., An X., Zhang X., Liu J., Wang J., Yang Z. Lithium chloride ameliorates cognition dysfunction induced by sevoflurane anesthesia in rats. *FEBS Open Bio*. 2019; 10 (2): 251–258. DOI: 10.1002/2211-5463.12779. PMID: 31867790
16. 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
17. 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; 177 (2): 282–289. DOI: 10.1016/j.bbr.2006.11.021 PMID: 17210190
18. 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 PMID: 30336136
19. McKnight R.F., Adida M., Budge K., Stockton S., Goodwin G.M., Geddes J.R. Lithium toxicity profile: a systematic review and metaanalysis. *Lancet*. 2012; 379 (9817): 721–728. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61516-X PMID: 22265699
20. Longa E.Z., Weinstein P.R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989; 20 (1): 84–91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84 PMID: 2643202
21. Juhaszova M., Zorov D.B., Yaniv Y. Role of glycogen synthase kinase-3 β in cardioprotection. *Circ Res*. 2009; 104 (11): 1240–1252. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.197996 PMID: 19498210
22. Ostrava I.V., Grebenchikov O.A., Golubeva N.V. Neuroprotective Effect of Lithium Chloride in Rat Model of Cardiac Arrest. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2019; 15 (3): 73–82 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
23. Santos C.O., Caeiro L., Ferro J.M., Figueira M.L. Mania and stroke: a systematic review. *Cerebrovasc Dis*. 2011; 32 (1): 11–21. DOI: 10.1159/000327032 PMID: 21576938
24. 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 PMID: 26394555
25. Bosche B., Molcanyi M., Rej S., Doepfner 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 PMID: 27999548
26. 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
27. 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: exploratory analyses of neuroanatomical and cognitive outcomes. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2019; 39 (1): 67–71. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000981 PMID: 30566418
28. Grebenchikov O.A., Lobanov A.V., Shaykhutdinova E.R., Kuzovlev A.N., Ershov A.V., Likhvansev V.V. Cardioprotective effect of lithium chloride on a rat model of myocardial infarction. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya*. 2019; 23 (2): 43–49. [In Russ.] DOI: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49
29. Cherpakov R.A., Grebenchikov O.A., Plotnikov E.JU., Likhvansev V.V. Comparison of pharmacological renal preconditioning with dalargin and lithium ions in the model of gentamycin-induced acute renal failure. *Anesthesiol. i reanimatol*. 2015; 60 (1): 58–63 [In Russ.]. PMID: 26027228

Поступила 2021.05.10

Received 2021.05.10