

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ИВАНОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ПРОНИН Артем Викторович

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЛЕЙ ЛИТИЯ

14.03.06 — фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Громова Ольга Алексеевна

Иваново — 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Современные представления о литии	14
1.2. Молекулярные маршруты осуществления нейропротективных эффектов лития	16
1.3. Экспериментальные и клинические подтверждения нейропротективных эффектов лития при ишемии головного мозга	36
1.4. Экспериментальные и клинические эффекты лития при нейродегенеративных заболеваниях	40
1.5. Другие направления использования лития в клинической медицине	44
1.6. Роль лигандов в составе солей лития	47
1.7. Витамин С и его нейропротекторные свойства	49
1.8. Стресс-протективное действие органических солей лития	55
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	57
2.1 Изучение распределения лития в биосубстратах при использовании органических солей лития	57
2.2 Моделирование нейродегенеративного повреждения нейронов головного мозга крыс	62
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	69
3.1 Оценка фармакокинетических параметров биораспределения лития при приёме органических солей	69
3.1.1 Биораспределение лития при приёме аскорбата лития	69
3.1.2. Биораспределение лития при приёме цитрата лития	78
3.1.3 Сравнительный анализ биораспределения лития при приёме органических солей	87
3.2. Оценка влияния солей лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка	89
3.2.1. Оценка влияния солей лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без воздействия глутамата	89

3.2.2. Оценка влияния солей лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса	107
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	127
ВЫВОДЫ	131
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	132
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	133
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	134

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность научного исследования

Среди патологий нервной системы особое место занимают хронические нейродегенеративные заболевания (НДЗ), под которыми понимают наследственные или спорадически встречающиеся прогрессирующие нарушения функций нервной системы, связанные с дегенеративными изменениями и гибелью нервных клеток.

Десятки миллионов людей в мире и миллионы в России страдают хроническими НДЗ, к которым относятся болезнь Паркинсона (БП) (Гехт А. Б. и др., 2014; Pringsheim T. et al., 2014), болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Гентингтона (БГ) и многие другие (Гусев Е. И., 2002; Парфенов В. А. и др., 2014; Угрюмов М. В., 2010; Федорова Н. В. и др., 2012). НДЗ быстро прогрессируют, что заканчивается инвалидизацией и летальным исходом больных. Деменцией страдает 5,4% населения мира старше 65 лет, или 35,6 млн человек, в Западной Европе она диагностирована у 7 млн, в Восточной Азии — у 5,5 млн, в Северной Америке — у 5,5 млн (Cummins J., 2017), а к 2040 г. их распространенность может превысить 100 млн (Alzheimer's Association, 2017; Livingston G. et al., 2017; Lovrecic L. et al., 2013).

Быстрый рост числа больных объясняется в первую очередь увеличением продолжительности жизни населения развитых стран. Так, количество пациентов с БА увеличивается с возрастом по экспоненте от 3% среди населения в возрасте 65–74 года до 19% — 75–84 года и до 47% — старше 85 лет (Hashimoto R. et al., 2002). Считается, что быстрый рост числа больных обусловлен не только увеличением продолжительности жизни, но и другими факторами, например, повышением уровня загрязнения окружающей среды (химические токсины, возбудители инфекций), хроническим стрессом, в первую очередь социальным (Chen K. et al., 2013).

В XXI в. БП стала вторым по распространенности НДЗ в мире после БА. Частота БП составляет около 120 случаев на 100 тыс. человек, но особенно часто

она наблюдается у лиц пожилого возраста. БП заболевает каждый сотый житель Земли, достигший 60 лет. Такая тревожная статистика во многом определяется существующими демографическими тенденциями. По прогнозам, число пациентов с БП увеличится вдвое уже к 2030 г. и ориентировочно вчетверо — к 2050 г. (Иллариошкин С. Н., 2017; Левин О. С. и др., 2012; Neumann R. et al., 2014).

Несмотря на огромные инвестиции в лечение БП и БА, продолжительность жизни больных после постановки диагноза обычно не превышает 10 лет (Bekris M. L. et al., 2010; De Munter J. P. et al., 2014).

Острые нарушения мозгового кровообращения являются важнейшей медико-социальной проблемой во всех странах, занимая лидирующие позиции по заболеваемости, смертности и инвалидизации населения во всем мире. На сегодняшний день в мире ишемический инсульт поражает каждый год от 5,6 до 6,6 млн человек и уносит 4,6 млн жизней (Скворцова В. И. и др., 2007).

Ключевым звеном патогенеза этих заболеваний является гибель нейронов, что со временем приводит к нарушению функций, в регуляции которых они участвуют. Так, при БП дегенерируют дофаминергические нейроны нигростриатной системы мозга, что приводит к нарушению двигательной функции, при БА в первую очередь погибают холинергические нейроны гиппокампа и коры, и это сопровождается нарушением памяти, потерей способности к обучению и социальной дезадаптацией. При ишемическом инсульте погибают все разновидности нейронов, попавшие в зону ишемического поражения.

Определено множество генетических маркеров БА, БП, БГ, бокового амиотрофического склероза (БАС), ишемического инсульта. Наряду с этим классическими триггерами НДЗ являются факторы внешней среды. Среди них важнейшую роль играет состояние макро- и микроэлементного статуса. Доказанной является роль алюминия, ртути, серебра, других тяжелых металлов в возникновении НДЗ. В последние годы активно изучается протективная роль микроэлементов, в частности лития, для профилактики и лечения НДЗ (Rybakowski J. K. et al., 2017).

Ионы лития проявляют свои эффекты путем активации нейропротекторных и нейротрофических клеточных каскадов. Механизмы, посредством которых

осуществляются эти эффекты, включают ингибирование киназы гликогенсинтетазы-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3), индукцию автофагии, ингибирование NMDA-рецепторов, антиапоптотическое действие и увеличение секреции BDNF (De Sousa R. T. et al., 2011; Vo T. M. et al., 2015).

Ингибирование киназы гликогенсинтетазы-3. Нейропротекторные и антиапоптотические эффекты лития связаны отчасти с его способностью ингибировать активность GSK-3 за счет конкурентного антагонизма с ионами магния. Фермент GSK-3 β фосфорилирует и модулирует активность нескольких регуляторных белков. Эти белки включают гликогенсинтазу (фермент, лимитирующий скорость синтеза гликогена), связанную с микротрубочками тау-белка, фактор транскрипции β -катенин, фактор инициации трансляции eIF2B, АТФ-цитрат лиазу, фактор теплового шока-1, CREB и др. Разнообразие таргетных белков вовлекает GSK-3 во многие аспекты клеточного метаболизма, роста, дифференциации и развития (Meffre D. et al., 2015).

Важно подчеркнуть, что GSK-3 β выполняет главную роль в регуляции внутриклеточного сигнального пути Wnt/ β -катенин, осуществляющего процессы регуляции синаптической пластичности и поддерживающего выживание нейронов. Нарушения активности каскада Wnt/ β -катенин являются основными молекулярными событиями в патогенезе БА и хронических воспалительных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС). Одним из важных эффектов активации каскада является усиление захвата глюкозы нейронами и опосредование эффектов инсулина (Doble B. W. et al., 2003).

Являясь конкурентным антагонистом ионов Mg^{2+} , литий оказывает прямое ингибирующее воздействие на Mg-АТФ-зависимую каталитическую активность GSK-3 β *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, показано существование множества механизмов косвенного ингибирования литием активности GSK-3 β . Так, в терапевтических концентрациях литий увеличивает фосфорилирование GSK-3 α в Ser21 и GSK-3 β в Ser9 (De Sousa R.T. et al., 2015). Выявлены многочисленные механизмы ингибирования GSK-3 β , включая цАМФ-зависимую активацию протеинкиназы А, PI3K-зависимую активацию протеинкиназы С, а также активацию Akt. Ак-

тивация GSK-3 также связана с апоптозом, делает очень вероятным тот факт, что нейропротекторный эффект лития может также осуществляться и за счет регулирования апоптоза нейронов (Chuang D. M. et al., 2011).

Литий и индукция аутофагии. Литий ингибирует ферменты инозитол монофосфатазу и инозитол полифосфат-1-фосфатазу. Взаимодействие иона лития с этими ферментами снижает их активность, что приводит к формированию необходимого уровня активности аутофагии в нейронах (Berridge M. J. et al., 1989).

Ингибирование литием рецепторов NMDA. Литий блокирует избыточный апоптоз, защищая нейроны от глутаматной эксайтотоксичности. Литий ингибирует NMDA-рецепторы за счет значительного ослабления фосфорилирования NR2B и NR2A субъединиц NMDA-рецепторов, которое наблюдается в условиях глобальной ишемии (Hashimoto R. et al., 2003; Ma J. et al., 2003).

Антиапоптотическое действие. Общим механизмом, реализующим влияние лития на GSK-3, инозитол-фосфат и глутаматную эксайтотоксичность, является изменение уровня продукции молекул выживания — белков семейства Bcl-2, BDNF, VEGF, HSP70, GRP78, tPA, а также проапоптотических факторов p53 и Bax (Keshavarz M. et al., 2013).

Увеличение секреции BDNF. Другим важным механизмом нейротрофического и нейропротекторного действия лития является непосредственно увеличение синтеза BDNF (мозгового нейротрофического фактора) в нейронах (Emamghoreishi M. et al., 2015). Применение лития также увеличивает уровень VEGF (фактора роста эндотелия сосудов) *in vitro* и *in vivo*. Предполагается, что данный эффект реализуется за счет ингибирования GSK-3 β и стабилизации β -катенина (De Sousa R. T. et al., 2011).

Нейропротекторные эффекты лития являются результатом его взаимодействия с механизмами клеточного выживания и апоптоза. Основное значение в повреждающем действии церебральной ишемии отводится увеличению внеклеточного содержания глутамата и последующему NMDA-зависимому увеличению внутриклеточного пула кальция, что вызывает активацию каспаз и апоптотических каскадов. В терапевтических концентрациях литий ингибирует NMDA-зависимый

вход кальция в клетку, что в свою очередь препятствует гиперактивации JNK, киназы p38 и фактора транскрипции AP-1 (Hashimoto R. et al., 2002; Ma J. et al., 2003).

Кроме того, литий обладает противовоспалительным эффектом за счет инактивации ядерного фактора κB (NF- κB), что происходит путем гипериндукции белка теплового шока HSP-70. Препятствуя ингибированию GSK-3 фактора роста VEGF и матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9), литий усиливает ангиогенез и ремоделирование сосудов в поврежденных участках головного мозга (Emamghoreishi M. et al., 2015).

Исследования последних лет продемонстрировали перспективы применения в неврологической практике органических солей лития. Важно подчеркнуть, что нейропротекторный эффект лития проявляется при весьма умеренных дозах (30–100 мкг/кг), которые гораздо ниже, чем используемые в литиевой терапии психиатрических заболеваний (Гоголева И. В., 2009, 2015). Однако данные об особенностях биораспределения органических солей лития и влияния данных солей на выживаемость нейронов в нейродегенеративных моделях животных являются крайне противоречивыми и недостаточными, что позволило предпринять попытку изучения особенностей распределения органических солей лития у крыс, а также влияния органических солей лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса *in vitro*.

Степень разработанности проблемы

В ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академии» Минздрава России на кафедре фармакологии с 2000-х гг. проводятся исследования органических солей лития. В диссертационном исследовании И. В. Гоголевой (2009) было выяснено, что на фоне применения глюконата лития отмечается преимущественное накопление лития в лобных долях головного мозга. Кроме того, глюконат лития предотвращал снижение показателей иссле-

довательского поведения в тесте «открытое поле» и сложного двигательного поведения после воспроизведения хронической двусторонней окклюзии общих сонных артерий, что свидетельствует об уменьшении чувствительности головного мозга к хроническому ишемическому повреждению на фоне применения лития. Таким образом, показана высокая нейпротекторная активность органических солей лития.

Цель исследования — изучение биораспределения лития при введении *per os* органических солей лития (цитрата, аскорбата) и сравнение эффектов органических солей лития (цитрата, аскорбата) и неорганических солей лития (хлорида, карбоната) на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматной токсичности *in vitro*.

Задачи научного исследования

1. Изучить особенности биораспределения цитрата лития ($\text{Li}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) при введении *per os* в различных биосубстратах крыс: кровь, головной мозг, лобная доля головного мозга, сердце, аорта, лёгкие, печень, почки, селезёнка, надпочечники, бедренная кость, моча.
2. Изучить особенности биораспределения аскорбата лития ($\text{LiC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) при введении *per os* в различных биосубстратах крыс: кровь, головной мозг, лобная доля головного мозга, сердце, аорта, лёгкие, печень, почки, селезёнка, надпочечники, бедренная кость, моча.
3. Оценить выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка при действии солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , $\text{LiC}_6\text{H}_7\text{O}_6$, $\text{Li}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$).
4. Оценить выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка при действии солей натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$).

5. Провести нейроцитологические исследования выживаемости зернистых нейронов мозжечка при действии солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , $\text{LiC}_6\text{H}_7\text{O}_6$, $\text{Li}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) в модели глутаматного стресса.
6. Провести нейроцитологические исследования выживаемости зернистых нейронов мозжечка при действии солей натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$) в модели глутаматного стресса.

Научная новизна исследования

Определены особенности биораспределения цитрата лития и аскорбата лития в организме крыс.

Цитрат лития преимущественно накапливается в крови, головном мозге. Аскорбат лития накапливается в крови, лобной доле головного мозга.

Цитрат лития и аскорбат лития достоверно повышали выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка при глутаматном стрессе в сравнении с эффектами неорганических солей лития (хлорида лития, карбоната лития) и натрия (цитрата натрия и аскорбата натрия).

Теоретическая и практическая значимость

Органические соли лития способствуют поддержанию стабильных концентраций иона лития в цельной крови и головном мозге, что важно для осуществления профилактического и терапевтического потенциала лития.

Результаты настоящего исследования подтвердили непосредственное нейропротекторное действие цитрата лития и аскорбата лития, оказываемое на зернистые нейроны мозжечка в культуре в условиях глутаматного стресса, что важно для профилактики и лечения неройродегенеративных заболеваний.

Положения, выносимые на защиту

1. Органические соли лития (цитрат лития, аскорбат лития) способствуют поддержанию стабильных концентраций иона лития в цельной крови, в головном мозге, что важно для осуществления профилактического и терапевтического потенциала лития.

2. При обработке цитратом лития культуры зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса повышалась выживаемость нейронов, чего не наблюдалось для неорганических солей лития (карбонат, хлорид) в том же диапазоне концентраций лития (0,1–1,0 ммоль/л). Максимальный нейропротекторный эффект цитрата лития наблюдался в концентрации 0,2 ммоль/л: выживаемость культивированных зернистых нейронов повышалась в среднем на 20% ($p < 0,003$).

3. При обработке аскорбатом лития культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса в том же диапазоне концентраций лития (0,1–1,0 ммоль/л) достоверно повышалась выживаемость. Результаты анализа функций распределения чисел выживших нейронов при концентрациях аскорбата лития 0,2; 0,5 и 1,0 ммоль/л показали достоверное отличие от результатов, полученных при действии глутамата без добавления аскорбата лития.

4. Результаты исследования позволяют предположить, что аскорбат- и цитрат-анионы способствуют более эффективному транспорту ионов лития внутрь нейронов.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала с использованием современных методов, соответствующих поставленным задачам. Выводы, сформулированные

в диссертации, подтверждены экспериментальным материалом, анализом литературы, точностью статистической обработки полученных результатов. Материалы диссертации были представлены на XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2016), Юбилейном XX форуме «Национальные дни лабораторной медицины России — 2016» Общероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием (Москва, 2016), X международном научно-практическом конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2015), XI международном научно-практическом конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2016), XI Международной научно-практической конференции «Пожарная и аварийная безопасность» (Иваново, 2016), 23-й Международной специализированной выставке «АПТЕКА 2016» (Москва, 2016), Второй Всероссийской конференции с международным участием Научного центра неврологии «Фундаментальные проблемы нейронаук: функциональная асимметрия, нейропластичность и нейродегенерация» (Москва, 2016), III Всероссийской образовательно-научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Иваново, 2017), IV Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново, 2018), V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 2018).

Личное участие автора в получении результатов

Автору принадлежит определяющая роль в выработке цели исследования, постановке задач и обосновании путей их достижения, проведен анализ 262 источников литературы, из них 22 отечественных и 240 иностранных. Основная часть экспериментов, анализ, статистическая обработка результатов и формули-

ровка на их основе выводов о механизмах повреждения нейронов выполнены лично автором.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 5 — в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 161 странице машинописного текста и состоит из введения, трех глав собственных исследований, выводов, содержит 19 таблиц и 68 рисунков. Библиографический список включает 262 источника, из них 22 отечественных и 240 иностранных.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о литии

Литий (от греческого *λίθος* — камень) был открыт в 1817 г. шведским химиком Йоганом Августом Арфведсоном в минерале петалите (Авцын А. П., 1991). Эссенциальность лития была впервые продемонстрирована в 1976–1980 гг. (Авцын А. П., 1991). Суточная потребность в литии, по последним данным (Aral H., 2008), составляет около 14,3 мкг/кг/сут.

История терапевтического применения лития насчитывает около 130 лет. Во второй половине XIX в. в Европе литий применяли как средство для лечения подагры и как снотворное. В 1949 г. австралийский врач Джон Кейд продемонстрировал способность лития вызывать снотворный эффект у больных с маниакальным синдромом (Cade J. F. et al., 1999), что повысило интерес к применению лития в терапевтических целях.

В настоящее время соли лития используют для лечения маниакальных состояний различного происхождения, а также для профилактики и лечения аффективных психозов благодаря выраженному нормотимическому действию (Chen G. et al., 1999). Кроме того, литий является препаратом выбора для предупреждения новых эпизодов биполярной депрессии (Geddes J. R. et al., 2013).

В сочетании с карбамазепином (основным назначением которого является симптоматическая фармакотерапия эпилепсии) карбонат лития используется для лечения аффективных расстройств и маний. Помимо собственно антиманиакальных эффектов, карбонат лития предотвращает гипонатриемию, индуцированную приёмом карбамазепина. Приём карбоната лития является одним из факторов, определяющих положительный эффект терапии маниакального синдрома карбамазепином (Musetti L. et al., 2018). Кроме того, препараты лития снижают риск суицида (Tondo L. et al., 2009).

Применение карбоната лития в психиатрии и неврологии осложнено существенными побочными эффектами, что связано как с высокими дозами карбоната (граммы), так и с токсичностью самой субстанции карбоната лития. В частности, при длительном использовании карбоната лития (годы) у пациентов, проходящих терапию аффективных психических расстройств, развиваются гиперпара-, гипотиреоз и нарушения функции почек (Marti J. L., et al., 2012; Medić V. et al., 2018; Meehan A. D. et al., 2015; Ott M. et al., 2016).

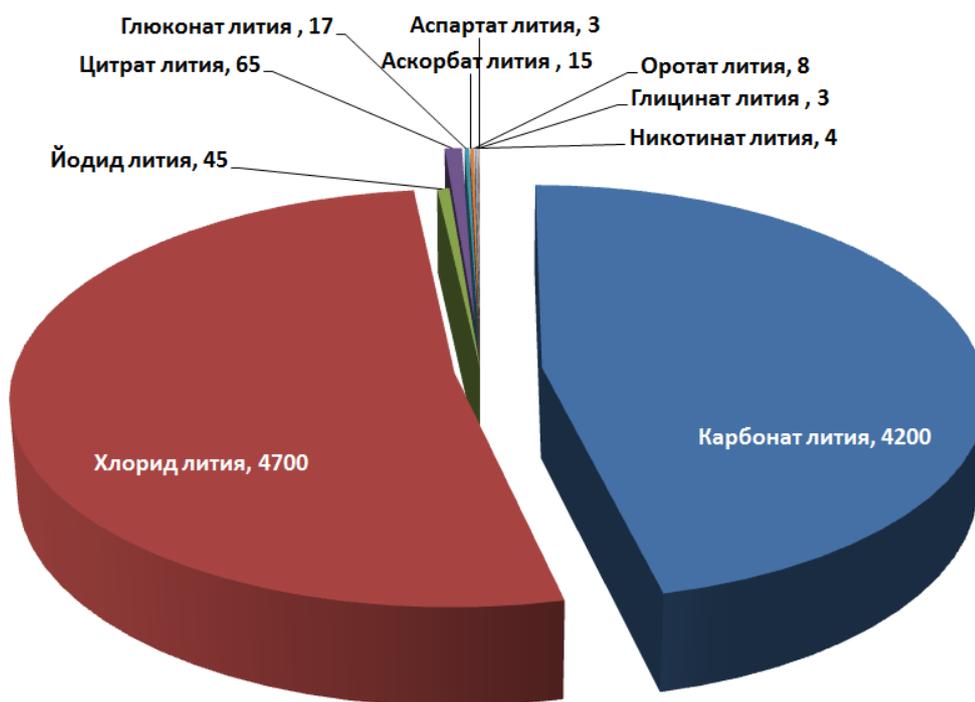


Рисунок 1 — Количество исследований различных препаратов лития в базе данных Pubmed

Эти и другие неблагоприятные последствия приема карбоната лития стимулируют поиски других форм лития, которые позволили бы избежать неблагоприятных побочных эффектов. В частности, исследуется эффект применения оротата лития в лечении алкоголизма и связанных с этим условий, йодида лития при терапии спутанности сознания, аскорбата лития при болезнях зависимости, цитрата и других органических форм лития для нейропротекции при ишемическом инсульте и нейродегенеративных заболеваниях (НДЗ) и других органических солей лития (Tsuji S. et al., 2003) (см. рис. 1).

1.2. Молекулярные маршруты нейропротективных эффектов лития

Ион лития проявляет свои эффекты путем активации нейропротективных и нейротрофических клеточных каскадов. Механизмы, посредством которых осуществляются эти эффекты лития, включают ингибирование киназы гликогенсинтетазы-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3 α и GSK-3 β) (Chuang D. M. et al., 2011; De Sousa R. T. et al., 2015; Malhi G. S. et al., 2016; Ngok-Ngam P. et al., 2013; Tanno M. et al., 2014), активирование нейротрофинов (De Sousa R. T. et al., 2011), увеличение количества факторов, повышающих клеточную выживаемость (регулятор апоптоза Bcl-2 (Keshavarz M. et al., 2013), нейротрофический фактор мозга (BDNF)/тропомиозиновый тирозинкиназный рецептор (TrkB), транскрипционный фактор (CREB) (Meffre D. et al., 2015), белок теплового шока (Hsp70), β -катенин (Emamghoreishi M. et al., 2015)), снижение антиапоптотической активности (например, эксайтотоксичности), уровней белка p53, Bcl-2-ассоциированный X-белка, каспазы, выделения цитохрома C, образование β -амилоидного пептида и гиперфосфорилирование тау-белка) (Nciri R. et al., 2013; Ngok-Ngam P. et al., 2013), ингибирование инозитолмонофосфатазы (IMP), индукцию автофагии, ингибирование NMDA-рецепторов (Myint A. M. et al., 2014), увеличение секреции мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и активирование пути выживаемости фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) / протеинкиназы B (Akt) (De Sousa R. T. et al., 2011).

1.2.1. Ингибирование киназы-3 гликогенсинтетазы

Один из основных и общеизвестных механизмов действия лития как нейропротекторного средства связан с его способностью ингибировать активность фермента GSK-3. Ионы лития ингибируют GSK-3 β посредством конкурентного

вытеснения иона Mg^{2+} причем данный эффект характерен только для ионов Li^+ и не наблюдается для ионов других щелочных металлов (Na^+ , K^+ , Cs^+ , Rb^+) (Ryves W. J. et al., 2001).

Многие физико-химические свойства иона Li^+ гораздо ближе к свойствам иона Mg^{2+} (группа IIА периодической системы элементов Д. И. Менделеева), чем к свойствам ионов других щелочных металлов (группа IA). В частности, ионы Li^+ и Mg^{2+} являются неполяризуемыми «твердыми» катионами с высокой плотностью заряда и сильным сродством с кислородсодержащими лигандами. Оба иона характеризуются близкими ионными радиусами: $r_i(Li^+) = 0,59\text{Å}$, и $r_i(Mg^{2+}) = 0,57\text{Å}$ для координационного числа 4, $r_i(Li^+) = 0,76\text{Å}$ и $r_i(Mg^{2+}) = 0,72\text{Å}$ для координационного числа 6 (Shannon R. D., 1976).

В работе И. Ю. Торшина (2017) проведён систематический анализ координационной химии ионов Li^+ и Mg^{2+} в активном центре GSK-3 β . Приведены результаты вычисления значения энергии по методу Пуассона для процесса вытеснения иона Mg^{2+} ионом Li^+ . Результаты показали, что конкуренция между катионами Mg^{2+} и Li^+ зависит от суммарного заряда комплекса белок-катион, числа катионов металлов и наличия определённой конфигурации отрицательно заряженных групп в активном центре фермента. Уникальные конфигурации активных центров ферментов GSK-3 β и IMPA1 гарантируют, что ион Li^+ будет ингибировать именно эти, а не другие Mg^{2+} -зависимые ферменты (Торшин И. Ю. и др., 2017) (рис. 2).

По данным анализа (Торшин И. Ю. и др., 2017), из 50 057 известных белков протеома человека выделили 20180 аннотированных белков, для которых установлены основные биологические роли. Из 20 180 белков 47 были так или иначе связаны с осуществлением биологических ролей лития. Условно эти белки были названы «литий-зависимыми» (табл. 1). Данные белки также представлены в протеоме крысы, причем аминокислотные последовательности литий-зависимых белков протеома крысы характеризовались высокой степенью идентичности соответствующим белкам протеома человека ($85 \pm 12\%$).

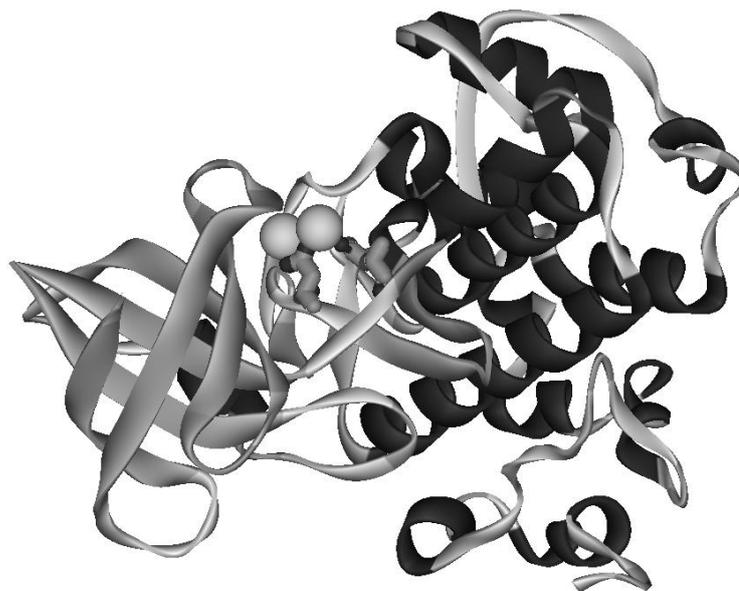


Рисунок 2 — Структура GSK-3 β с 2 ионами Mg²⁺ в активном центре, связанными аминокислотными остатками D200 и N186. Ион Li⁺ замещает один из ионов Mg²⁺

Таблица 1 — Литий-зависимые белки протеома человека, регулируемые посредством киназы GSK-3 β и модулирующие уровни инозитофосфатов. Аннотации белков анализировали методом функционального связывания — одной из информационных технологий современной биоинформатики (Громова О. А. и др., 2013; Torshin I.Yu., 2009)

Ген	Белок	Функция белка/гена	Роли иона лития
Белки, регулируемые посредством GSK3 β			
GSK3B	Киназа-3-бета гликоген синтазы	Контроль нейротрофического каскада Wnt и гомеостаза глюкозы	Фермент ингибируется ионами Li ⁺
MAPT	Тау-белок	Стабилизация микротрубочек	Повышение активности тау-белка
FABP4	Транспортный белок жирных кислот	Липогенез, гомеостаз холестерина	Снижение экспрессии FABP4
CDH1	Е-кадгерин	Стабилизация β -катенина в пути Wnt	Повышение экспрессии CDH1

Ген	Белок	Функция белка/гена	Роли иона лития
COX2	Простагландин G/H-синтаза 2	Производство провоспалительных простагландинов	Снижение экспрессии провоспалительного NF-κB и циклооксигеназы-2 в ЦНС
СЕВРА	ССААТ/энхансер- связывающий белок альфа	Выживание нейронов, экспрессия нейротрофи- ческих факторов, глюко- неогенез	Увеличение продолжитель- ность жизни белка СЕВРА посредством ингибирования протеасом
NFATC4	Ядерный фактор активированных Т-клеток 4	Индукция интерлейки- нов IL-2,4, апоптоз сенсорных нейронов	Увеличение транслокации NFATC4 в ядро, что приводит к повышению уровня проапоптотического FasL
FAS	Апоптоз- опосредующий антиген FAS	Рецептор проапоптотического FAS-лиганда	Активация рецептора Fas
NR1D1	Внутриядерный рецептор 1D1	Li-чувствительный компонент циркадиан- ных часов, липогенез, глюконеогенез	Ускорение деградации NR1D1 на протеосомах и активация гена BMAL1 циркадианных часов
ID2	Ингибитор ID2 ДНК-связывающих белков	Поддержание циркадиан- ного ритма, регулирова- ние дифференциации нейронов	Экспрессия повышается при активации каскада Wnt
EIF2B5	Фактор инициации трансляции eIF-2B эпсилон	Дифференциация астро- цитов, миелинизация	Ингибирование GSK3B активирует белок eIF-2B
ASCL1	Сигнальный белок ASCL1	Развитие различных типов нейронов в ЦНС, ингибирование апоптоза	Активация ионами Li ⁺
MYOG	Миогенин	Дифференциация миоци- тов, адаптация мышц	Повышает уровни миогенина, индуцирует дифференциацию посредством стабилизации бета-катенина

Ген	Белок	Функция белка/гена	Роли иона лития
Белки, участвующие во внутриклеточной передаче сигнала посредством фосфоинозитидов			
IMPA1	Инозитол монофосфатаза 1	Обеспечение клетки инозитолом для синтеза фосфатидил-инозитолов	Белок содержит Li-связывающий сайт, ионы лития ингибируют фермент
IMPA2	Инозитол монофосфатаза 2	Дефосфорилирование инозитолфосфатов до миоинозитола	Li ⁺ модулирует активность промотора IMPA2, фермент ингибируется ионами Li ⁺
IMPAD1	Инозитол монофосфатаза 3	Дефосфорилирование инозитолфосфатов до миоинозитола	Ингибируется ионами Li ⁺
INPP1	Инозитолполифосфат 1-фосфатаза	Дефосфорилирование 1D-миоинозитол-1,4-бисфосфата до миоинозитол-4-фосфата	Ингибируется ионами Li ⁺
PTK2B	Тирозин-киназа 2-бета	Регуляция NMDA рецепторов, активация PI3K, каскадов AKT1, ERK1, ERK2	Li ⁺ подавляет фосфорилирование остатка тирозин-402, инактивирует NMDA-рецептор

Анализ протеомов крысы и человека подтвердил, что ингибирование GSK-3 β (Zheng J. et al., 2016) и IMPA1 (Damri O. et al., 2015; Shtein L. et al., 2015) — одна из основных фармакологических мишеней действия лития на ЦНС. В том же исследовании было подтверждено, что курсовой прием цитрата лития способствует ингибированию GSK3 β и IMPA1 в гидролизатах головного мозга крыс, у которых была воспроизведена модель глобальной ишемии. Результаты указывают на плеiotропный эффект ионов лития на протеом. Во-первых, ингибируя GSK3 β , литий способствует активации нейротрофических механизмов, во-вторых, ингибируя IMPA1, модулирует уровни сигнальных молекул инозитолфосфатов, участвующих в каскадах выживания нейронов.

Фермент GSK-3 β фосфорилирует и модулирует активность нескольких регуляторных белков, включая гликогенсинтазу (фермент, лимитирующий скорость синтеза гликогена), связанный с микротрубочками тау-белок, фактор транскрипции β -катенин, фактор инициации трансляции eIF2B, АТФ-цитрат лиазу, фактор теплового шока-1, CREB и др. Разнообразие таргетных белков вовлекает GSK-3 во многие аспекты клеточного метаболизма, роста, дифференциации и развития (Beurel E. et al., 2010; Brabley C. A. et al., 2012; Kessing L. V. et al., 2018; Kim T. Y. et al., 2011).

Важно подчеркнуть, что GSK-3 β выполняет главную роль в регуляции внутриклеточного сигнального пути Wnt/ β -катенин, осуществляющего процессы регуляции синаптической пластичности и поддерживающего выживание нейронов (Doble B. W. et al., 2003). Нарушения активности каскада Wnt/ β -катенин — основные молекулярные события в патогенезе болезни Альцгеймера (БА) (Grimes C. A. et al., 2001) и хронических воспалительных заболеваний ЦНС (Kaidanovich O., 2002). Один из важных эффектов активации каскада — усиление захвата глюкозы нейронами и опосредование эффектов инсулина (Inestrosa N. C. et al., 2014) (рис. 3).

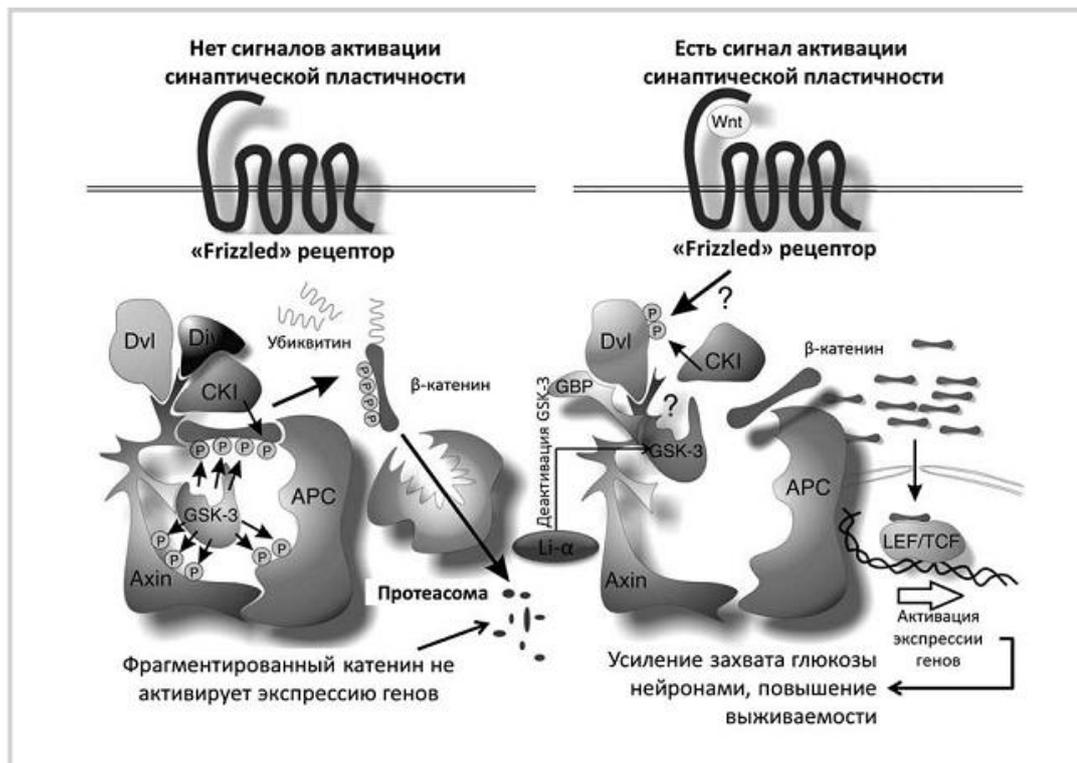


Рисунок 3 — Инактивация литием киназы гликогенсинтазы 3 моделирует процессы активации синаптической пластичности и выживания нейронов через белок-белковые взаимодействия в сигнальном каскаде Wnt/ β -катенин

При отсутствии сигналов активации синаптической пластичности белки казеин киназа-1 (CKI), диверсин (Div) и сигнальный белок Dvl за счет активности киназы GSK-3 стимулируют фосфорилирование β -катенина, что приводит к протеолизу этого белка. Литий, попадающий в нейроны, ингибирует активность GSK-3 и тем самым активирует процессы синаптической пластичности и выживания нейронов. Являясь конкурентным антагонистом ионов Mg^{2+} , литий оказывает прямое ингибирующее действие на Mg -АТФ-зависимую каталитическую активность GSK-3 β *in vitro* и *in vivo* (Mendes C. T. et al., 2009).

Кроме того, показано существование множества механизмов косвенного ингибирования литием активности GSK-3 β . Так, в терапевтических концентрациях литий увеличивает фосфорилирование GSK-3 α в Ser21 и GSK-3 β в Ser9. Выявлены многочисленные механизмы ингибирования GSK-3 β , включая цАМФ-зависимую активацию протеинкиназы А, PI3K-зависимую активацию протеинкиназы С, а также активацию (Aubry J. M. et al., 2009). Взаимосвязь активации GSK-3 с апоптозом (Beurel E. et al., 2014) указывает на возможность осуществления нейропротективных эффектов лития посредством прямого ингибирования апоптоза нейронов. Установлена возможность дозозависимого влияния лития на экспрессию GSK-3 β посредством воздействия на транскрипцию гена (Mendes C. T. et al., 2009).

Кроме того, GSK-3 непосредственно регулирует несколько нейромедиаторных систем, включая серотонин-, дофамин-, холин- и глутаматергические системы (Beaulieu J. M., et al., 2009; Jope R. S., 2003). Изменения в этих нейротрансмиттерных системах непосредственно связаны с депрессией, биполярным расстройством и шизофренией.

GSK-3 также участвует в патогенезе многих нейropsychиатрических расстройств, таких как БА (Assadi M. et al., 2009; Duka T. et al., 2009; Gromova O. A. et al., 2015), болезнь Паркинсона (БП) (Li D. W., 2014), спиноцеребеллярная атаксия типа 1 (Watase K. et al., 2007), рассеянный склероз, синдром хрупкой X-хромосомы, синдром Дауна (King M. K., et al., 2014), болезнь Гентингтона (БГ) (Carmichael J., 2002), травма головного мозга (King M. K. et al., 2014) и ишемический инсульт (Koh S. H. et al., 2008; Leeds P. R. et al., 2014).

Прием лития в терапевтических дозах в результате ингибирования GSK-3 продемонстрировал значительное снижение уровня фосфорилирования тау-белка в живых клетках и нейронах, тем самым снижая уровни агрегированных, нерастворимых тау-белков (Lovestone S. et al., 1999; Noble W. et al., 2005). Кроме того, литий может блокировать синтез амилоидных бета-пептидов, препятствуя расщеплению предшественника бета-амилоида, тормозя накопление амилоидных бета-пептидов в мозге мышей (Noble W. et al., 2005).

GSK-3 может регулировать когнитивные функции, воздействуя на компоненты синаптической пластичности, при долгосрочной депрессии (LTD) и долгосрочной потенциации (LTP), участвующих в регулировании обучения и памяти (Bradley C. A. et al., 2012; Hooper C. et al., 2008).

GSK-3 также участвует в регуляции процессов воспаления. В частности, GSK-3 ключевой регулятор баланса между про- и противовоспалительным производством цитокина как в периферической, так и в ЦНС и влияет на пролиферацию Т-клеток, дифференциацию и выживание, так что ее ингибирование определяет противовоспалительные эффекты. Показано, что введение ингибиторов GSK-3 у мышей контролирует ряд воспалительных и иммунных процессов как на периферии, так и в ЦНС (Bunker C. H. et al., 1991).

Ингибирование GSK-3, а также ее генетическая инактивация в ряде экспериментов приводили к антидепрессивному поведению и выраженным антиманиакальным эффектам в различных моделях животных (Beaulieu J. M., et al., 2009; Beaulieu J. M. et al., 2008; Gould T. D. et al., 2004; Kaidanovich-Beilin O. et al., 2004; Kalinichev M. et al., 2011; Prickaerts J. et al., 2006; Rowe M. K. et al., 2007).

1.2.2. Антиапоптотическое действие лития

Общим механизмом, реализующим влияние лития на GSK-3, инозитол-фосфат и глутаматную эксайтотоксичность, является изменение уровня продукции молекул выживания — белков семейств Bcl-2, BDNF, VEGF, HSP70, GRP78, tPA, а также проапоптотических факторов p53 и Bax (Kazemi H. et al., 2018; Li X. et al., 2002; Medić V. et al., 2018).

Как упоминалось ранее, ингибирование GSK-3 литием стимулирует генную и белковую экспрессию антиапоптотических факторов (Gould T. D. et al., 2004; Kaidanovich-Beilin O. et al., 2004). В частности, доклинические исследования головного мозга крыс и нейронов человека показали, что длительное введение лития стимулирует производство нейропротекторных и нейротрофных белков, таких как Bcl-2 и BDNF (Chen G. et al., 1999; Chen R. W. et al., 1999; Hashimoto R., 2002; Manji H. K. et al., 2000).

Bcl-2 не только является основным антиапоптотическим белком, но и стимулирует регенерацию аксонов после травмы (Huang X. et al., 2003; Manji H. K. et al., 2000).

Примечательно, что длительное введение низких доз лития, поддерживая уровень в плазме 0,35 ммоль/л, привело к повышению уровня Bcl-2 в лобной коре и гиппокампе крыс (Goodwin F. K. et al., 2007).

В отличие от проапоптотических белков, таких как Bax или Bak, Bcl-2 является антиапоптотическим белком, ингибирующим высвобождение цитохрома C из митохондрий путем регулирования проницаемости наружной митохондриальной мембраны (Maiuri M. C. et al., 2007). Другим цитопротективным действием Bcl-2 является поддержание гомеостаза кальция в эндоплазматическом ретикулуме. Длительное применение лития приводило к увеличению экспрессии Bcl-2 в лобных долях головного мозга крыс и в культуре зернистых клеток мозжечка. В культуре клеток параллельно с увеличением экспрессии Bcl-2 отмечалось снижение уровней p53 и Bax, а также блокирование глутамат-индуцированного высвобождения цитохрома C. В культуре клеток PC12 индуцированное литием увеличение уровня Bcl-2 приводило к цитопротективному эффекту на фоне применения амилоида β (Chen R. W. et al., 1999) и повреждения эндоплазматического ретикулума,

вызванного тапсигаргином (специфическим ингибитором Ca^{2+} -АТФазы мембраны эндоплазматического ретикулума (Hiroi T. et al., 2005).

Другой стороной антиапоптотического действия лития является индукция белков теплового шока, в первую очередь HSP-70, а также белка из этого же семейства — GRP78. Повышение уровня GRP78 наряду с увеличением содержания Bcl-2 определяет цитопротективное действие лития в условиях повреждения эндоплазматического ретикулума. Также интересно отметить, что применение лития снижало уровни регуляторных микроРНК (т. е. молекул РНК, специфически регулирующих синтез определенных белков) в гиппокампе крыс, в том числе микроРНК miR34a, обладающей прямым ингибирующим действием на трансляцию проапоптотического белка Bcl-2 (Zhou R. et al., 2009).

1.2.3. Увеличение секреции мозгового нейротрофического фактора

Другим важным механизмом нейротрофического и нейропротективного действия лития является увеличение синтеза BDNF в нейронах (Su H. et al., 2009). BDNF является нейротрофином, играющим решающую роль в развитии коры, синаптической пластичности, дифференциации нейронов и процессах выживания (Yasuda S. et al., 2009).

В ряде исследований было продемонстрировано, что BDNF участвует в патофизиологии ряда психических расстройств, при этом отмечается снижение уровня BDNF во время маниакальных, смешанных и депрессивных эпизодах биполярной депрессии (БД) (Dell'Osso L. et al., 2009; Machado-Vieira R. et al., 2007; Piccinni A. et al., 2008; Piccinni A. et al., 2015; Post R. M., 2007), а также у пациентов с хроническим посттравматическим стрессовым расстройством (Dell'Osso L. et al., 2009) и шизофренией (Fernandes B. S. et al., 2015).

Клинические исследования показали, что литий восстанавливает и даже увеличивает уровни BDNF у пациентов с БД (De Sousa R. et al., 2011).

Длительное применение лития у крыс приводит к увеличению уровня BDNF в различных отделах головного мозга. Литий активирует и увеличивает уровень BDNF в гиппокампе, а также в лобной и височной долях коры головного мозга крыс (Angelucci F. et al., 2003; Frey B.N. et al., 2006; Fukumoto T. et al., 2001).

В эксперименте не только длительная терапия, но даже однократное введение препаратов лития приводят к увеличению уровня TrkB (рецепторов для BDNF) в передней части поясной извилины. Однократное применение препаратов лития снижало фосфорилирование CREB — важного сигнального белка в каскаде TrkB (Rantamaki T. et al., 2005).

Вызываемое литием увеличение синтеза BDNF также приводит к активации сигнального пути TrkB, который активирует сигнальные клеточные пути MAPK/ERK и PI3K/Akt (Hashimoto R., 2002). Посредством сигнального белка CREB активация каскада ERK/MAP литием инициирует транскрипцию BDNF, а также индуцирует экспрессию гена Bcl2. С активацией нейротрофических сигнальных каскадов лечение крыс терапевтическими дозами лития активирует рибосомальную S6-киназу (член сигнального пути MAPK) и CREB и, в конечном счете, удваивает уровни антиапоптотического белка Bcl2 в лобной коре, о чем свидетельствует увеличение числа Bcl2-иммунореактивных клеток во II и III слоях лобной коры (Chen G. et al., 2001; Manji H.K. et al., 2002).

Кроме того, литий осуществляет эпигенетическое метилирование промотора гена BDNF, что имеет долговременный эффект на экспрессию BDNF (Dwivedi T. et al., 2014).

Применение лития также увеличивает уровень VEGF (фактора роста эндотелия сосудов) *in vitro* и *in vivo* (Guo S. et al., 2009; Hellweg R. et al., 2002; Silva R. et al., 2007; Warner-Schmidt J. L. et al., 2008).

Предполагается, что данный эффект реализуется за счет ингибирования GSK-3 β и стабилизации β -катенина.

1.2.4. Литий и индукция аутофагии

Аутофагия — процесс утилизации отработавших или дефектных компонентов клетки внутри лизосом. Аутофагия является неотъемлемым процессом в поддержании жизнедеятельности любой клетки, в том числе нейронов, способствуя устранению поврежденных органелл клетки, частично денатурировавших белков и их агрегантов и повреждений, вызываемых окислительным или токсическим стрессом (Warner-Schmidt J. L. et al., 2008).

Инозитол-фосфолипиды играют ключевую роль в ряде сигнальных путей в регуляции аутофагии. Такие инозитол-фосфолипиды, как фосфатидил-инозитол-4,5-бисфосфат (PIP 2), инозитол-1,4,5-трифосфат (IP-3) и сигнальная молекула диацилглицерол (DAG), модулируют активность многих внутриклеточных событий. В частности, IP-3 связывается с IP-3-рецепторами и содействует высвобождению кальция из внутриклеточных запасов в эндоплазматической сети. Литий ингибирует ферменты инозитол монофосфатазу (Hallcher L. M. et al., 1980) и инозитол полифосфат-1-фосфатазу (Ragan C. I. et al., 1988).

Прямое ингибирование фермента инозитол монофосфатазы 1 посредством ионов лития является хорошо установленным фактом. Исследования инозитол монофосфатазы 1 с использованием мутагенеза, кинетики и флуоресценции (Greasley P. J. et al., 1993) показали, что ион Li⁺ непосредственно взаимодействует с одним из атомов кислорода фосфатной группы субстрата фермента, что приводит к вытеснению одного из трёх ионов Mg²⁺ активного центра. Активный центр фермента IMPA1 содержит три Mg-связывающих сайта: сайт I с высоким сродством к магнию (Glu-70, Asp-90, Ile-92) и два сайта с низким сродством к

магнию — сайт II (Asp-90, Asp-93, Asp-220) и сайт III (Glu-70, Lys-36, Asp-41) (Торшин И. Ю. и др., 2017) (рис. 4).

В зависимости от концентрации ионов Li^+ последние могут замещать каждый из этих ионов Mg^{2+} (PDB 2BJI). Взаимодействие иона лития с IMPA1 снижает активность фермента, что приводит к формированию необходимого уровня активности аутофагии в нейронах (Berridge M. J. et al., 1989) (рис. 5).

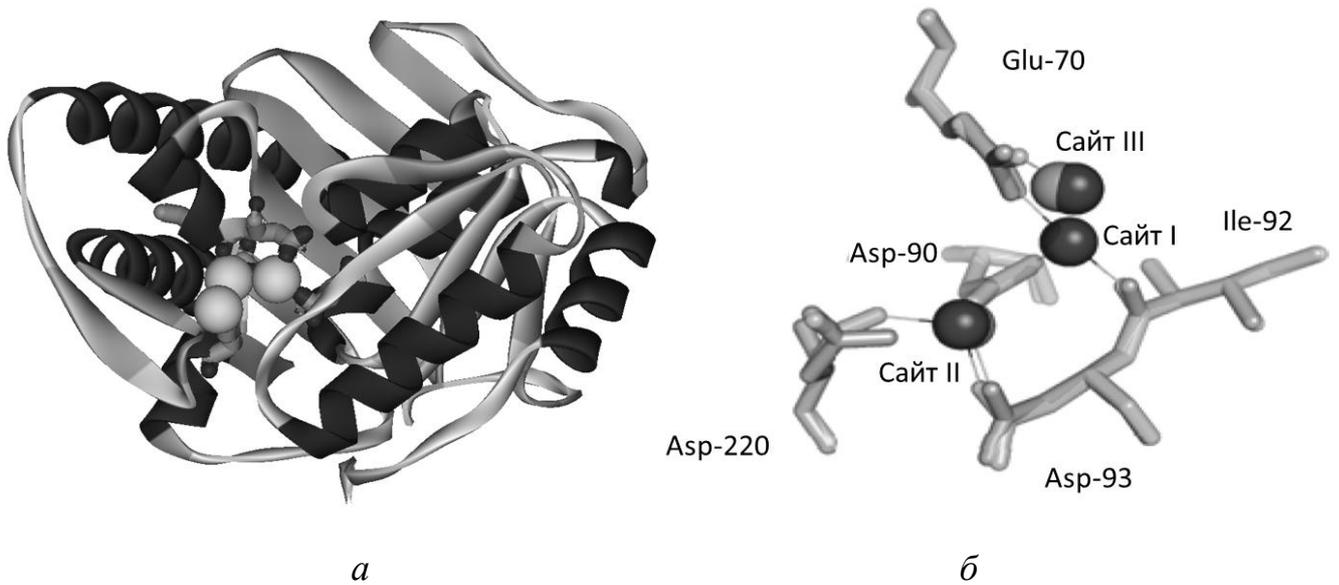


Рисунок 4 — Структура инозитол монофосфатазы 1 IMPA1 (а) с тремя ионами Mg^{2+} в активном центре фермента (б)

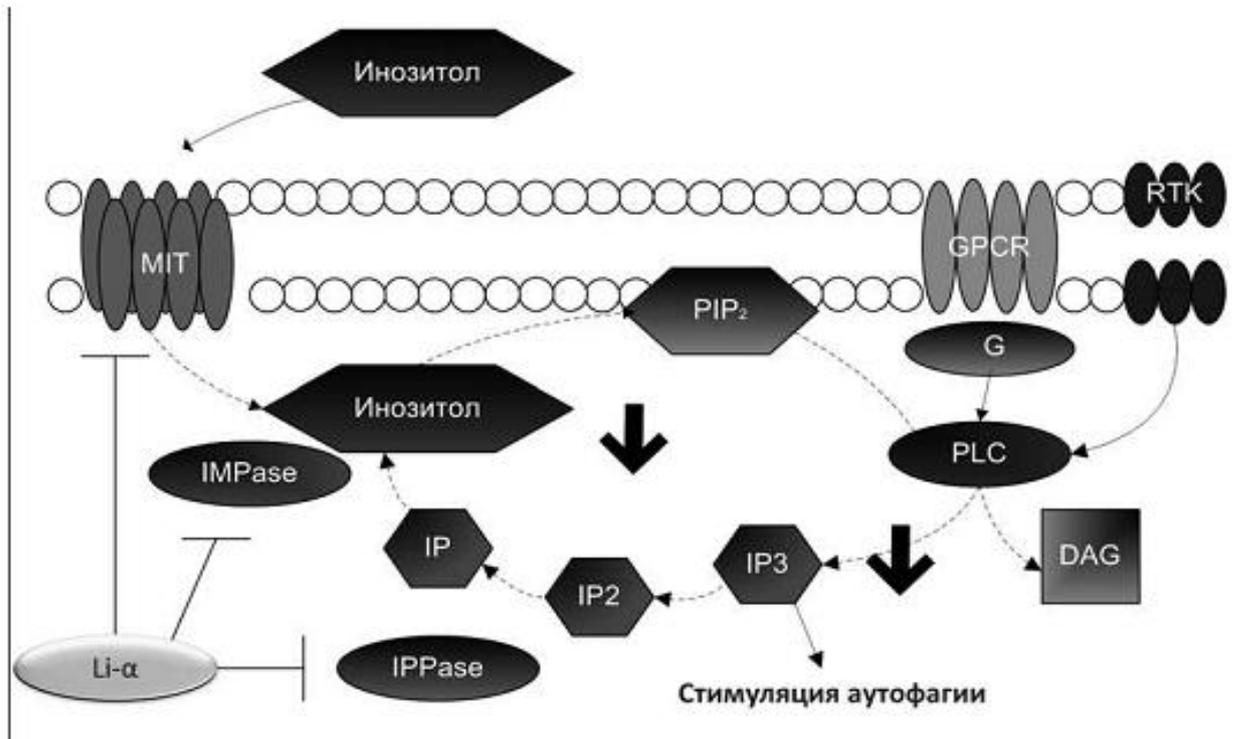


Рисунок 5 — Литий и индукция аутофагии

посредством регуляции инозитол-зависимых сигнальных путей

1.2.5. Ингибирование литием N-метил-D-аспарат рецепторов

Литий блокирует избыточный апоптоз, защищая нейроны от глутаматной эксайтотоксичности (Nonaka S. et al., 1998). На культурах клеток нейронов гиппокампа, мозжечка и коры головного мозга крыс показано, что литий тормозит избыточное поступление ионов Ca^{2+} в клетку и тем самым не допускает избыточной активации апоптоза. Литий ингибирует NMDA-рецепторы за счет значительного ослабления фосфорилирования NR2B- и NR2A-субъединиц NMDA-рецепторов, которое наблюдается в условиях глобальной ишемии (Hashimoto R., 2002; Ma J. et al., 2003).

На рис. 6 обобщены предполагаемые молекулярные механизмы нейротрофического и нейропротекторного действия лития.

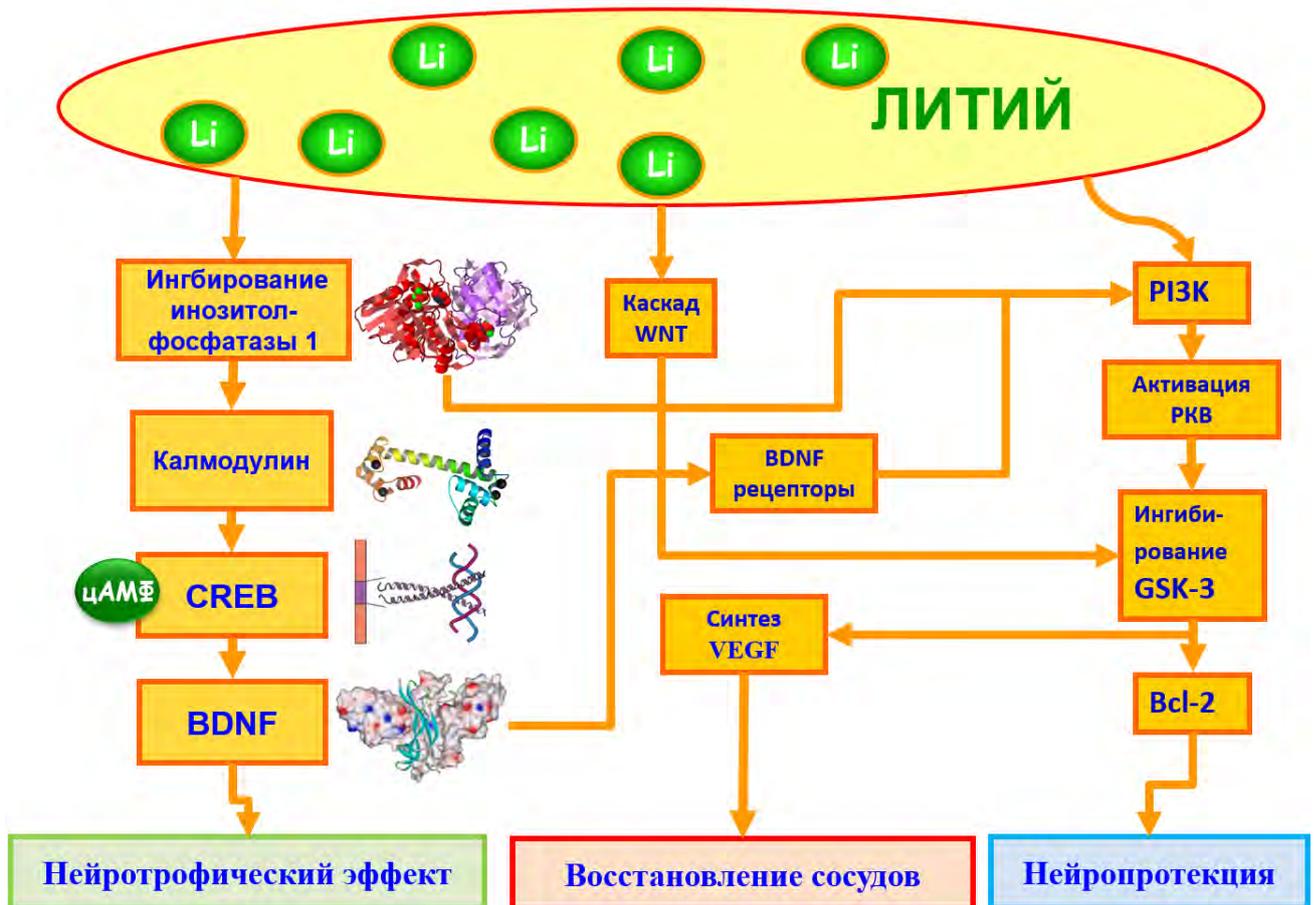


Рисунок 6 — Возможные молекулярные механизмы нейротрофического и нейропротекторного действия лития

В ряде исследований литий защищал нейроны от глутаматной эксайтотоксичности в первичных культурах нейронов мозжечка, коры больших полушарий мозга и гиппокампа крыс (Chuang D. M. et al., 2006; Hashimoto R., 2002; Nonaka S. et al., 1998).

Нейропротекторный эффект был также получен при введении низких доз лития (0,1–0,6 ммоль/л) и был связан с ингибированием NMDAR-опосредованного притока кальция (Chuang D. M. et al., 2006).

1.2.6. Другие эффекты лития

Литий и окислительный стресс. Препараты лития усиливают скорость дыхания митохондрий (Bachmann R. F. et al., 2009), уменьшают окислительный стресс (Macedo D. S. et al., 2013), защищают ДНК от повреждения окислительным стрессом (Arraf Z. et al., 2012; Ngok-Ngam P. et al., 2013) и модулируют приток кальция в митохондриях (Bosche B. et al., 2013; Shalbuyeva N. et al., 2007). Наряду с повышением выживаемости нейронов после повреждения литий способствует нейрогенезу нейронов гиппокампа (Bianchi P. et al., 2010; Coras R. et al., 2010; Rajkowska G. et al., 2016). Нарушенный нейрогенез человека наблюдается при различных заболеваниях, имеющих отношение к нейропсихиатрическим расстройствам: например, большая депрессия (Snyder J. S. et al., 2011), шизофрения (Мао Y. et al., 2009) и БА (Crews L. et al., 2010) и нейродеструктивным расстройствам (СЛХ и синдром Дауна) (Bianchi P. et al., 2010). Литий стимулирует пролиферацию и дифференцировку предшественников нейронов, а также их созревание и функционирование (Hashimoto R., 2003, Kim J. S. et al., 2004; Li H. et al., 2011; Yan X. B. et al., 2007).

Участие ионов лития в метаболизме простых сахаров. Метаболизм глюкозы и других простых сахаров зависит, в частности, от концентраций ионов лития и магния. Например, литий тормозит избыточный глюконеогенез в печени (Bosch F. et al., 1992), модулирует активность гликолитических ферментов фосфофруктокиназы и фосфоглюкомутаза в головном мозге, в печени и в мышцах (Nordenberg J. et al., 1982).

Показатель $\text{Na}^+ \text{-Li}^+$ -противотранспорта (ПТ) — предиктор диабетической нефропатии (van Dijk D. J. et al., 1996) и повышенного артериального давления (Dobos M. et al., 1994). Скорость натриево-литиевого ПТ в эритроцитах зависит от степени выраженности инсулинорезистентности (Lijnen P., 1993) и отражает состояние пациентов с инсулинозависимым сахарным диабетом (у пациентов с диабетом $\text{Na}^+ \text{-Li}^+$ -ПТ более 0,40 ммоль/ч/л).

Одним из важнейших эффектов воздействия ионов лития на метаболизм простых сахаров является влияние лития на секрецию и функции инсулина. В эксперименте на культуре островковых клеток поджелудочной железы, ионы

лития совместно с инозитолфосфатами участвуют в регуляции секреции инсулина клетками (Zawalich W. S. et al., 1989). Ионы лития повышают чувствительность различных типов клеток к инсулину (в т. ч. нейронов) (Masko A. R. et al., 2008). В эксперименте было показано, что эффекты лития на секрецию инсулина и уровень глюкозы в крови опосредованы взаимодействиями ионов лития с ад-ренорецепторами (Fontela T. et al., 1990). В инсулинрезистентных клетках ионы лития способствуют активации транспорта глюкозы внутрь клетки за счет потенцирования внутриклеточных сигнальных путей инсулина (в частности, сигнального белка p38-МАРК) (Fontela T. et al., 1990).

Анализ данных пациентов с биполярным расстройством позволил установить, что ионы лития стимулируют экспрессию гена инсулиноподобного фактора роста ИФР-1 (Squassina A. et al., 2013).

Литий и обмен липидов. Состояние натриево-литиевого ПТ, помимо воздействия на метаболизм простых сахаров, также взаимосвязано с изменениями уровней триглицеридов, холестерина (Diaz-Sastre C. et al., 2005) и индексом массы тела (Salvagno G. L. et al., 2008)

У пациентов с семейной гиперхолестеринемией отмечены нарушения натриево-литиевого ПТ (Wierzbicki A. S. et al., 2000). Уровни адипонектина и лептина взаимосвязаны с интенсивностью Na/Li ПТ эритроцитов и метаболизмом глюкозы (Svensson J. et al., 2005), причем интенсивность Na/Li ПТ обратно пропорциональна уровню адипонектина (Elias E. et al., 2010).

Иначе говоря, при недостаточном потреблении лития с пищей (или при наследственно обусловленной конституции, соответствующей ускоренной потере лития клетками), уровни адипонектина, лептина и ИФР-1 будут снижаться. И наоборот, дотации лития способствуют нормализации выработки этих «гормонов похудения».

Ионы лития и регуляция артериального давления. При эссенциальной гипертонии инсулинрезистентность и ожирение ассоциированы с более высоким уровнем Na/Li ПТ (Doria A. et al., 1991). Другими словами, внутриклеточный дефицит лития является фактором риска коморбидности гипертонической болез-

ни, сахарного диабета и избыточной массы тела. Кросс-секционные и лонгитудинальные подходы к анализу данных, полученных в ходе клинических исследований, указали на взаимосвязь Na/Li ПТ, уровней ожирения, инсулина, артериального давления (Bunker C. H. et al., 1991) и мочевой кислоты (Strazzullo P. et al., 1989).

В эксперименте препараты лития снижали повышенное артериальное давление в модели гипертонии (Koda L. Y. et al., 1981). Воздействие ионов лития на артериальное давление связано с регуляцией биологической активности ренина, ангиотензина, норадреналина, альдостерона и натрийуретического пептида предсердий (Bisogni V. et al., 2016). Также ионы лития модулируют ацетилхолин-опосредованную вазодилатацию посредством воздействия на синтез оксида азота и поддержания баланса вазодилаторных и вазоконстрикторных простагландинов (Rahimzadeh-Rofouyi B. et al., 2007).

Влияние ионов лития на гемопоэз. Ионы лития способствуют улучшению гемодинамики и процессов кроветворения (гемопоэза) (Focosi D. et al., 2009). В частности, литий способствует увеличению уровня фактора роста колоний лейкоцитов (G-CSF), что может быть использовано при лечении нейтропении, а также при трансплантации костного мозга.

Литий способствует компенсации агранулоцитоза, вызванного приемом карбамазепина. Гематологические эффекты лития были изучены в группе пациентов с аффективными расстройствами, проходивших терапию карбамазепином. Совместный прием карбоната лития и карбамазепина снижал сокращение общего числа лейкоцитов, в частности нейтрофилов (Joffe R. T., 1988).

Литий и регуляция процессов воспаления. Ионы лития воздействуют на процессы воспаления (в т. ч. в нервной ткани) за счёт модуляции метаболизма каскада арахидоновой кислоты и ускорения биотрансформации омега-3 докозагексаеновой кислоты в противовоспалительный докозаноид 17-гидрокси-докозагексаеновой кислоты — маркёр биосинтеза резольвинов и протектинов (Basselin M. et al., 2010).

В частности, ионы лития способствуют ингибированию циклооксигеназы-2, что снижает концентрации пирогенного простагландина E₂ в головном мозге и в

других тканях. Известно, что селективные ингибиторы циклооксигеназы-2 могут значительно повышать уровни лития в плазме крови (Phelan K. M. et al., 2003).

Как за счёт воздействия на активность каскада арахидоновой кислоты, так и посредством других молекулярных механизмов ионы лития способствуют регуляции уровней провоспалительных цитокинов. В частности, от уровня лития зависит экспрессия ФНО- α в нейтрофилах (посредством регулирования активности гликоген-синтазы-киназы-3) (Giambelluca M. S. et al., 2014).

В эксперименте показано, что ионы лития воздействуют на синтез ФНО- α и IL-6 в моноцитах (Arena A. et al., 1997). У пациентов с биполярной депрессией, проходивших терапию карбонатом лития, отмечено увеличение в плазме крови противовоспалительных «растворимых» факторов некроза опухоли 1-го и 2-го типов. Подчеркнем, что хроническое избыточное воспаление является фактором коморбидности атеросклероза, артериальной гипертензии, диабета и ожирения.

Участие ионов лития в гомеостазе нейромедиаторов. Ионы лития избирательно накапливаются в ЦНС. В эксперименте, при введении интрагастрально глюконата лития (28 мкг/кг/сут из расчета на элементный Li, 30 сут.) отмечалось преимущественное накопление лития в лобных долях головного мозга (Гоголева И. В., 2009). Избирательное накопление ионов лития в мозге важно, в частности, для поддержания цитоархитектоники коры и биосинтеза различных нейротрансмиттеров.

Результаты настоящего анализа показали, что литий оказывает существенное воздействие на гомеостаз самых разных нейротрансмиттеров: ацетилхолина, энкефалинов, катехоламинов (в т. ч. допамина), серотонина и др. Ионы лития влияют на метаболизм и активность рецепторов ацетилхолина. В частности, влияют на активность ацетилхолинэстеразы и секрецию ацетилхолина в коре головного мозга (Hillert M. H. et al., 2014).

В эксперименте показано влияние и однократного, и курсового приёма лития на уровни холина и ацетилхолина в мозге. Холин способствует активации транспорта ионов лития внутрь клеток. В процессе лечения карбонатом лития пациентов с биполярным расстройством отмечено накопление холина в эритро-

цитах (Beilharz G. R. et al., 1986) (в частности за счет восстановления Li/Na ПТ в эритроцитах) (Diamond J. M. et al., 1982).

Ионы лития способствуют стабилизации мускариновых рецепторов ацетилхолина (Lerer B. et al., 1985), регулируют активность мускариновых рецепторов и протеинкиназы С, в частности в нейронах гиппокампа (Creson T. K. et al., 2011). В эксперименте регулярные дотации лития предотвращают индуцированную атропином сверхчувствительность отклика мускариновых рецепторов в гиппокампе (Ellis J. et al., 1990). Этот механизм вносит определённый вклад в терапевтический эффект препаратов лития при аффективных расстройствах, сопровождающихся гипервозбудимостью мускариновых рецепторов.

В эксперименте ионы лития ингибировали связывание энкефалинов опиатными рецепторами головного мозга (Stengaard-Pedersen K. et al., 1982) и регулировали уровни энкефалинов в гипофизе. Дотации хлорида лития нарушали привыкание к морфину посредством активации литием сигнальных путей с участием NO и цГМФ в мозге (Kiyani A. et al., 2011).

Литий ослабляет воздействие диноρφина А(1–13) на инозитол 1,4,5-трифосфат. В то же время литий способствует повышению концентрации Мет-энкефалина в бледном шаре и в хвостатом ядре (Gillin J. C. et al., 1978) — отделах головного мозга, отвечающих за поведение, эмоциональность речи и формирование условных рефлексов.

Ионы лития воздействуют на гомеостаз допамина. В частности, при экспериментальном моделировании биполярного расстройства путем резкого увеличения уровней ацетилхолина или допамина повышение концентрации ионов лития в плазме крови тормозило развитие симптоматики биполярного расстройства (van Enkhuizen J. et al., 2015).

Литий ослабляет активность сигнальных каскадов, вызываемую активацией D2-рецепторов допамина посредством воздействия на метаболизм АРК (Basselin M., 2005). Также ионы лития ослабляют опосредованное активацией D1-рецепторов дофамина увеличение секреции ацетилхолина в лобной коре.

Ионы лития модулируют активность рецепторов серотонина: активируют 5-гидрокситирамин-1А- и 5-гидрокситирамин-1В-рецепторы; проявляют ингибирующий эффект по отношению к 5-НТ(2В/2С)- и 5-НТ(3)-рецепторам серотонина в мозге (Castro M. A. et al., 2009); селективно модулируют активность 5-НТ2А-рецепторов с участием арахидоновой кислоты (Basselin M. et al., 2005).

Ионы лития воздействуют и на активность рецепторов других нейротрансмиттеров: повышают уровни рецепторов ГАМК, ослабляют активность сигнальных каскадов, активируемых посредством NMDA-рецепторов (Basselin M. et al., 2006), тормозят формирование зависимости от каннабиноидов посредством модуляции сигнальных путей цАМФ, ERK1/2 и GSK-3.

1.3. Экспериментальные и клинические подтверждения нейропротективных эффектов лития при ишемии головного мозга

Было показано, что нейропротективные эффекты лития являются результатом его взаимодействия с механизмами клеточного выживания, апоптоза и гомеостаза нейротрансмиттеров. Основное значение в повреждающем действии церебральной ишемии отводится увеличению внеклеточного содержания глутамата и последующему NMDA-зависимому увеличению внутриклеточного пула кальция, что вызывает активацию каспаз и апоптотических каскадов. В терапевтических концентрациях литий ингибирует NMDA-зависимый вход кальция в клетку, что в свою очередь препятствует гиперактивации JNK, киназы p38 и фактора транскрипции AP-1. Механизмы нейропротективных эффектов лития при ишемии головного мозга показаны на рис. 7.

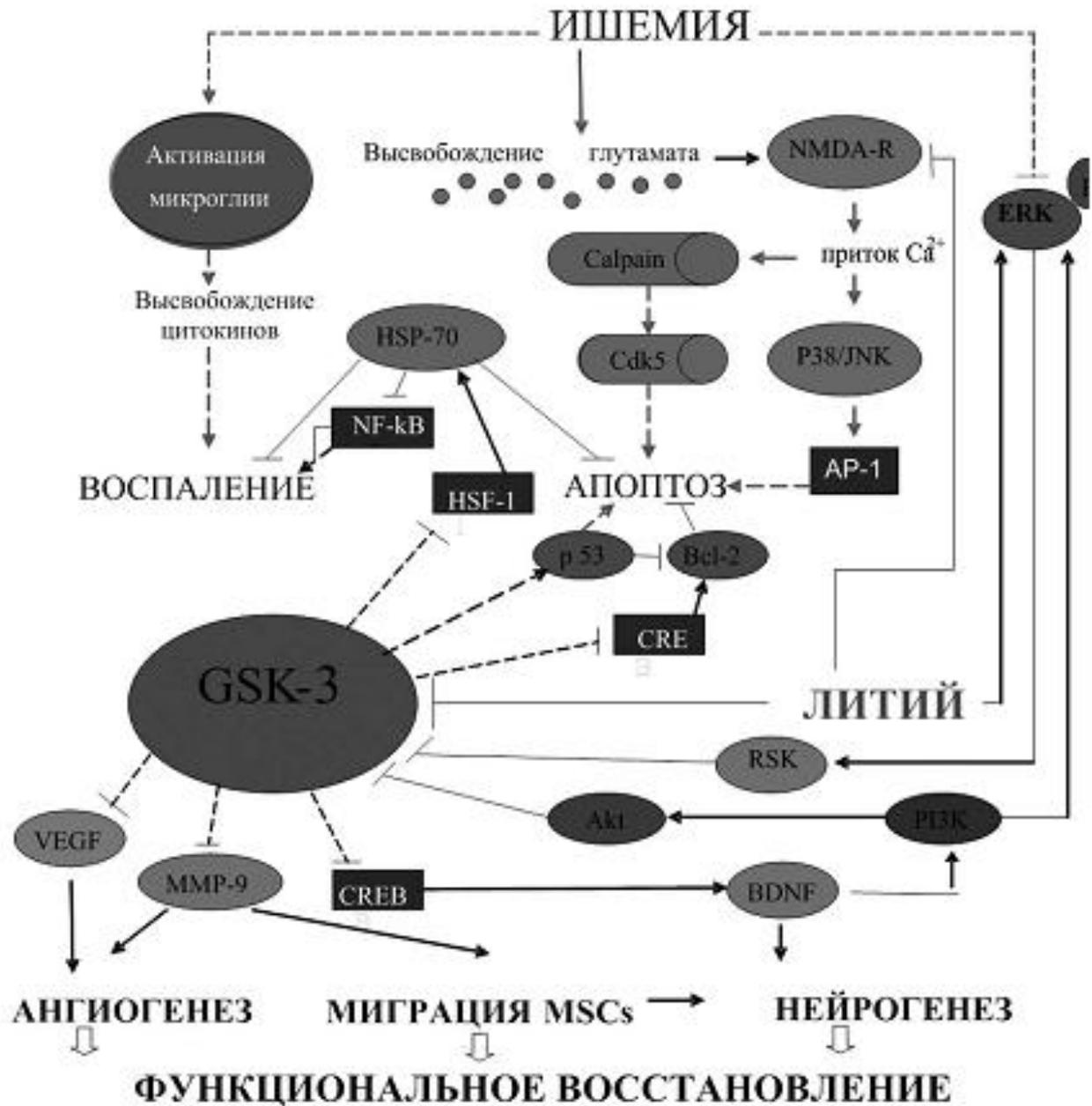


Рисунок 7 — Механизмы нейропротекторных эффектов лития, защищающие нейроны от церебральной ишемии

Препятствуя увеличению внутриклеточного пула кальция посредством регуляции инозитол-фосфатаз, литий уменьшает активность кальпаина в цитозоле и кальпаин-зависимую активацию проапоптотической киназы Cdk5/p25. В то же время, как уже было отмечено, ингибирование литием GSK-3 увеличивает активность факторов транскрипции CREB и HSP-1, которые в свою очередь индуцируют синтез основных нейротрофических белков BDNF, VEGF, MMP-9, HSP70 и Bcl-2 и снижают синтез/активность проапоптотического белка p53

(Bian Q. et al., 2007). Это приводит к снижению апоптоза клеток (Xu J. et al., 2003), активации сигнального пути выживания клеток PI3K/Akt (Chalecka-Franaszek E. et al., 1999) и ингибированию активации гипоксии, вызванной GSK-3 (Roh M. S. et al., 2005).

Кроме того, литий обладает противовоспалительным эффектом за счет инактивации ядерного фактора κB (NF- κB), что происходит путем гипериндукции белка теплового шока HSP70. Препятствуя ингибированию GSK-3 фактора роста VEGF и MMP-9, литий усиливает ангиогенез и ремоделирование сосудов в поврежденных участках головного мозга.

Все перечисленные механизмы представляют различные стороны нейропротективного действия лития, проявляющегося при ишемии головного мозга. В эксперименте долгосрочное лечение препаратами лития вело к уменьшению объема инфаркта, а также к снижению неврологического дефицита не только на модели постоянной окклюзии средней мозговой артерии (Nonaka S. Et al., 1998), но также и в переходных моделях постоянной окклюзии средней мозговой артерии с последующей реперфузией (Xu J. et al., 2003), которые наиболее близки к острому инсульту. Введение терапевтических доз лития в течение 3 ч после начала ишемии заметно уменьшало объем инфаркта мозга на фоне активации белков теплового шока HSF-1 и HSP70 в ишемизированных полушариях головного мозга. Функциональная МРТ показала, что даже позднее начало терапии литием (через 6–12 ч после начала ишемии с последующими ежедневными инъекциями в течение 2 недель) значительно улучшало гемодинамику в зоне пенумбры (Kim Y. R. et al., 2008; Xie C. et al., 2014).

Важно подчеркнуть, что нейропротективный эффект лития при ишемии проявляется при весьма умеренных дозах (30–100 мкг/кг), которые гораздо ниже, чем используемые при лечении психиатрических заболеваний (Гоголева И. В., 2009).

1.3.1. Влияние органических солей лития

на показатели исследовательского и сложного двигательного поведения.

Изучение исследовательского поведения в тесте «открытое поле»

В 2009 г. на базе Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Ивановская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» в рамках диссертационной работы И. В. Гоголевой было проведено исследование накопления и действия лития глюконата в головном мозге крыс (из расчета 0,028 мг Li/кг/день в течение 1 месяца) с последующим воспроизведением модели хронической гипоперфузии головного мозга путем хронической двусторонней окклюзии общих сонных артерий.

После применения глюконата лития в течение одного месяца было отмечено повышение горизонтальной двигательной активности в тесте «открытое поле», причем увеличилось число заходов в периферические внешние (неосвещенные) и центральные внутренние (освещенные) квадраты.

Показатели горизонтальной двигательной активности у животных, получавших глюконат лития, были выше таковых в контрольной группе. Так, медиана посещенных внешних квадратов группой животных, получавших глюконат лития, составила 6,2 ($Q_{25\%} = 3,2$, $Q_{75\%} = 10,8$; $p > 0,01$). Таким образом, применение глюконата лития предотвращало снижение горизонтальной двигательной активности у животных опытных групп в условиях хронической двусторонней окклюзии ОСА, что обусловлено снижением чувствительности головного мозга к ишемическому повреждению на фоне применения изучаемых элементов (Гоголева И. В., 2009). Важным результатом исследования (Гоголева И. В., 2009, Гоголева И.В. и др., 2015) являлось установление преимущественной компартиментализация Li в лобных долях головного мозга. Наибольшее содержание Li отмечено в гомогенате лобных долей больших полушарий головного мозга, наименьшее — в мозжечке ($p < 0,001$). Выявленные изменения соответствуют ре-

зультатам других исследований. Например, было продемонстрировано накопление Li именно в лобной коре и обонятельных луковицах крыс на фоне эндоназального применения церебролизина (Kudrin A. V. et al., 2004). С помощью позитронно-эмиссионной томографии показано, что применение карбоната лития приводит к преимущественному усилению метаболизма нейронов орбитофронтальной и лобной коры головного мозга, при этом нейрональная активность затылочных долей и мозжечка уменьшается (Hollander E. et al., 2008; Kohno T. et al., 2007).

1.4. Экспериментальные и клинические эффекты лития при нейродегенеративных заболеваниях

Основные механизмы действия лития, важные для лечения НДЗ, обусловлены его способностью ингибировать GSK-3 β , повышать синтез BDNF, проявлять антиапоптотическое действие. В эксперименте было показано, что литий уменьшает поведенческие и когнитивные нарушения в животных моделях НДЗ, таких как инсульт, БАС, синдром ломкой X-хромосомы, БГ, БА, БП (Forlenza O. V. et al., 2014).

Болезнь Альцгеймера. Литий обладает свойствами, которые позволяют снизить эффект критических патологических изменений, происходящих при нейродегенерации. В настоящее время считается, что ингибирование литием GSK-3 β является одним из наиболее важных механизмов противодействия нейродегенеративным процессам при БА (Diniz B. S. et al., 2013; Einat H. et al., 2003).

Ингибирование литием GSK-3 β тормозит два основных процесса в патогенезе БА: литий уменьшает гиперфосфорилирование тау-белка (Angelucci F. et al., 2003; Fu Z. Q. et al., 2010) и снижает избыточный синтез β -амилоида (Esselmann H. et al.; 2004, Phiel C. J. et al., 2003).

Кроме того, литий стимулирует пролиферацию клеток-предшественников нейронов в культурах клеток (Hashimoto R., 2003; Kim J. S. et al., 2004), активирует дыхательную цепь митохондрий (Ngok-Ngam P. et al., 2013), снижает воспаление за счет снижения синтеза интерлейкина-1 бета (IL-1 β), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) (Nahman S. et al., 2012) и арахидоновой кислоты (Basselin M. et al., 2007).

Результаты нескольких исследований подтвердили снижение риска развития БА у пациентов с БД при длительном лечении литием (Kessing L. V. et al., 2008, 2010). И наоборот, этот положительный эффект не проявлялся у пациентов, принимавших при лечении БД только противосудорожные препараты, антидепрессанты или антипсихотические средства (Kessing L. V. et al., 2010). Обнаружено улучшение когнитивных функций у пациентов с БА, в течение 15 месяцев принимавших микродозы лития 300 мкг (Nunes M. A. et al., 2013).

В целом в клинических исследованиях выявлены преимущества применения препаратов лития в профилактике деменции у пациентов с расстройствами настроения и умеренными когнитивными нарушениями (Mauer S. et al., 2014).

Болезнь Геттингтона. БГ является наследственным генетически-обусловленным НДЗ и вызывается умножением кодона CAG в гене IT-15, приводящим, в конечном итоге, к селективной гибели нейронов в стриатуме и коре (Hickey M. A. et al., 2003).

В патофизиологии БГ ведущая роль, по-видимому, принадлежит гиперактивации NMDA-рецепторов (Taylor-Robinson S. D. et al., 1996), поэтому литий, предотвращающий глутаматную эксайтотоксичность, может использоваться в терапии данной патологии.

За последние годы применение лития было неоднократно исследовано в клеточных и моделях животных с БГ. В модели с введением хинолиновой кислоты в стриатум крыс, которая воспроизводит многие клинико-морфологические характеристики БГ, подкожное введение хлорида лития в течение 16 дней до инфузии хинолиновой кислоты значительно уменьшала размер индуцированного эксайто-

тотоксичностью стриарного поражения. Выявленное нейропротекторное действие лития было связано с увеличением уровней белка Bcl-2 (Wei H. et al., 2001).

В исследовании (V. Senatorov et al., 2004) оценивали способность лития уменьшать дегенерацию и стимулировать пролиферацию клеток в модели БГ на крысах (введение хинолиновой кислоты в полосатое тело). Хлорид лития (0,5–30 ммоль/л) вводили подкожно за 24 ч до и через 1 ч после введения хинолиновой кислоты. В течение 7 дней терапии литий значительно уменьшал число погибших нейронов в полосатом теле, повышая уровни антиапоптотического белка Bcl-2. Окраска бромдезоксисуридином (маркер синтеза ДНК) клеток полосатого тела, подверженных воздействию лития, показала присутствие достоверно большего числа пролиферирующих клеток именно в местах поражения нейронов хинолиновой кислотой (Senatorov V. V. et al., 2004).

Использование препаратов лития было также исследовано в клинических испытаниях БГ. Последние клинические исследования продемонстрировали эффект стабилизации настроения у пациентов с БГ в разном возрасте и с различной продолжительностью болезни (Danivas V. et al., 2013; Raja M. et al., 2013).

Боковой амиотрофический склероз. Нейропротективные свойства лития также могут быть важны в терапии БАС — идиопатического прогрессирующего НДЗ, обусловленного избирательным поражением периферических двигательных нейронов передних рогов спинного мозга и двигательных ядер ствола мозга, а также корковых (центральных) мотонейронов и боковых столбов спинного мозга (Gordon P. H., 2011).

Способность лития вызывать прораствание пирамидальных нейронов в кортикоспинальный тракт после механической травмы указывает на возможность использования препаратов лития в терапии БАС (Dill J. et al., 2008).

Синаптогенез и нейротрофический ответ, индуцируемый литием в первичной культуре нейронов вентральной поверхности спинного мозга за счет ингибирования GSK-3 (Strong M. J., 2008), могут иметь значение для замедления прогрессирования БАС (Busceti C. L. et al., 2008).

Доклинические исследования показали значительное улучшение моторных функций в животных моделях БАС при лечении литием (Feng H. L. et al., 2008). В серии экспериментов, проведенных в работе F. Fornai et al. (2008), важным механизмом нейропротективного эффекта лития являлась стимуляция процессов аутофагии. В моделях мышей с БАС было продемонстрировано, что лечение литием или в сочетании с антиоксидантами улучшает двигательные функции и замедляет прогрессирование заболевания (Ferrucci M. et al., 2010; Shin J. H. et al., 2007). Основным механизмом данного улучшения было стимулирование литием аутофагии (Feng H. L., 2008).

Рассеянный склероз. РС — это хроническое аутоиммунное заболевание, при котором поражается миелиновая оболочка нервных волокон головного и спинного мозга. Наиболее часто используемой моделью РС является экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, индуцированный у млекопитающих путем системного введения миелина олигодендроцитов (MOG гликопротеина). Ингибирование GSK-3 является потенциальной терапевтической мишенью и для лечения РС (Beurel E., 2014).

Лечение литием в терапевтических дозах не только устраняет начало аутоиммунный энцефаломиелит, но и значительно уменьшает демиелинизацию, активацию микроглии и инфильтрацию лейкоцитов в спинном мозге. Эти результаты открывают перспективы использования лития при аутоиммунных и воспалительных заболеваниях, таких как РС (De Sarno P., 2008).

Болезнь Канавана является редкой формой врожденной лейкодистрофии, характеризующейся аномальным накоплением N-ацетиласпартата (NAA) в белом веществе головного мозга. В настоящее время эффективного лечения данного заболевания не выработано; повсеместно используется симптоматическая терапия. M. D. Solsona et al. (2012) описали лечение трехмесячной девочки с болезнью Канавана. Проводилась терапия цитратом лития (45 мг/кг/сут) в течение 1 года; осуществлялся периодический контроль активности щитовидной железы, показателей печеночных ферментов, а также уровня лития в крови. В ходе терапии не было отмечено нежелательных побочных эффектов. Через год после на-

чала лечения уровень NAA в головном мозге сократился примерно на 20%, в моче — на 80%. В клинической картине было отмечено улучшение внимания и визуального слежения, хотя сохранялась спастическая диплегия.

Учитывая отсутствие побочных эффектов терапии литием и ограниченные варианты лечения болезни Канавана, цитрат лития может являться целевым средством для торможения прогрессирования заболевания и улучшения качества жизни пациентов. Группа из 6 детей с клиническим, лабораторным и генетическим подтверждением диагноза болезни Канавана прошла курс лечения литием (45 мг/кг/сут) в течение 2 месяцев. Контроль над состоянием пациентов включил тестирование двигательных функций, МРТ, МР-спектроскопию, а также анализ крови. По результатам опроса родителей, у детей отмечалось улучшение внимания и социальной адаптации. МР-спектроскопия зафиксировала снижение концентрации NAA в базальных ганглиях, а при МРТ было установлено умеренное улучшение миелинизации в белом веществе лобных долей головного мозга (Assadi M., 2010).

1.5. Другие направления использования лития в клинической медицине

Травмы головного и спинного мозга. На модели крыс с повреждением спинного мозга, вызванным односторонней гемисекцией, при комбинированном лечении препаратами лития с хондроитиназой был достигнут синергидный эффект. Отмечено увеличение регенерации аксонов в руброспинальном тракте и улучшение движения передних конечностей (Yick L. W., 2004). Данный эффект наблюдался за счет увеличения секреции BDNF, который усиливает клеточное деление и дифференцировку клеток-предшественников нейронов наряду с уменьшением активации микроглии и макрофагов (Su H., 2007). Длительное применение препаратов лития подавляет активность GSK-3 вокруг пораженных

участков спинного мозга крыс и способствует росту аксонов при травме спинного мозга (Dill J. et al., 2008; Leeds P. R. et al., 2014).

Проведены исследования эффектов солей лития в моделях черепно-мозговой травмы (Shapira M. et al., 2007; Zhu Z. F. et al., 2010). Было установлено, что предварительное введение лития ослабляет экспрессию интерлейкина-1 β , отек мозга, нейродегенерацию гиппокампа, улучшает память, пространственное обучение в моделях черепно-мозговой травмы (Shapira M. et al., 2007; Zhu Z. F. et al., 2010).

Прионные заболевания. Трансмиссивные губчатые энцефалопатии, также известные как прионные заболевания, являются группой летальных НДЗ. Болезнь Крейтцфельда — Якоба является наиболее распространенным прионным заболеванием человека. Результаты некоторых исследований показывают, что нарушение регуляции серотонина, скорее всего, ассоциируется с высокой частотой нервно-психических расстройств при прионных заболеваниях. Кроме того, цитотоксичность прионов может быть заблокирована антагонистами рецепторов NMDA (Appleby V. S., 2009). Литий существенно снижает количество патологического прионного белка в прион-инфицированных нейронах путем индукции аутофагии. Комбинирование терапии литием с рапамицином дает аддитивный эффект по сравнению с монотерапией тем или иным препаратом по отдельности (Heiseke A., 2009).

Синдром Дауна — одно из наиболее распространенных хромосомных заболеваний, которое встречается у новорожденных со средней частотой 1 : 700. В основе патологии лежит трисомия по 21-й паре хромосом, приводящая к умственной отсталости, характерному внешнему виду пациента и другим порокам развития. Появляются данные, свидетельствующие о том, что снижение нейрогенеза является основным фактором, определяющим умственную отсталость при синдроме Дауна. Литий улучшает нейрогенез в субвентрикулярной зоне мышей с моделью синдрома Дауна (Bianchi P., 2010), а также оказывает положительный эффект при поздней дискинезии, вызванной длительным применением нейролептиков при синдроме Дауна (van Harten P. N., 2008).

Применение лития при химиотерапии. Проведены экспериментальные исследования по профилактике периферической нейропатии у мышей, вызванной химиотерапией паклитакселом. Индуцированная паклитакселом нейропатия является очень тяжелым осложнением терапии, приводящим к досрочному прекращению лечения. Совместное введение мышам лития и паклитаксела позволяет увеличить дозу последнего, повышает выживаемость на 60%, профилактирует нарушения сердечной деятельности, а также не снижает противоопухолевые свойства препарата (Mo M., 2012). У крыс, получавших винкристин, введение лития в дозах 20 и 40 мг/кг сокращало уровень смертности, а также предотвращало прогрессирование периферической полинейропатии (Alzheimer's Association, 2017).

Кератит. В работе K. Chen et al. (2013) исследовали влияние хлорида лития при кератите, вызванном синегнойной палочкой. Мышам вводили субконъюнктивально хлорид лития, в контрольной группе — хлорид натрия. Лечение уменьшало тяжесть заболевания роговицы, снижало воспалительную реакцию и бактериальную нагрузку. Литий увеличивал уровень противовоспалительного цитокина IL-10, вызывал снижение уровня провоспалительного TNF- α . Под воздействием лития повышался уровень противовоспалительных и снижалась продукция провоспалительных цитокинов.

В заключение следует отметить, что в настоящее время накоплен массив экспериментальных данных, указывающий на нейропротективные и нейротрофические эффекты лития при различных заболеваниях. Одним из центральных механизмов действия лития является ингибирование сигнального белка-фермента GSK-3 β , которое препятствует гибели нейронов при ишемии и нейродегенерации. Другим важным молекулярным механизмом действия лития является модуляция метаболизма фосфоинозитолов, что оптимизирует активность лизосом и стимулирует аутофагию (т. е. процессы «уборки» клетки от поврежденных белков). Данный механизм действия лития может быть использован в лечении ряда НДЗ, характеризующихся отложением дисфункциональных белков (β -амилоид, прионы и др.).

1.6. Роль лигандов в составе солей лития

Физиологические механизмы действия витамина С

Одним из органических лигандов для лития является аскорбат — анион аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота, в т. ч. ее производные L-аскорбиновая, $C_6H_8O_6$, лактон-2,3-дегидро-1-гулоновая кислота, L-дегидроаскорбиновая кислота, аскорбат анион, проявляют антистрессовый эффект (Vetvicka V., 2014). Аскорбиновая кислота обнаруживается во всех органах и тканях человека, присутствует в различных секретах: в поте, слюне, желчи (Бабенкова И. В. и др., 1999), но больше всего — в клетках крови, гипофизе, надпочечниках.

Функция витамина С как переносчика водорода в процессе тканевого дыхания является универсальной, как, например, соответствующая функция витамина В2. В некоторых окислительно-восстановительных процессах она играет ведущую роль, например в системе метгемоглобин — гемоглобин. Отмечено, что для поступления витамина С в клетки важен переход аскорбиновой кислоты в дидегидроаскорбиновую кислоту.

Способность аскорбиновой кислоты легко отдавать электроны соответствующим акцепторам и образовывать ион-радикалы лежит в основе её участия в окислительно-восстановительных реакциях (Казимирко В. К., 2004).

Аскорбиновая кислота выступает в качестве гидроксилирующего агента при образовании кортикостероидов в гомогенатах надпочечников, а также оказывает влияние на секрецию и действие адрено-кортикотропного гормона (Спиричев В. Б., 2004).

Аскорбиновая кислота наряду с токоферолом, биофлаваноидами и ретинолом является биоантиоксидантом прямого действия. Система антиоксидантной защиты включает биоантиоксиданты, ингибирующие аутоокисление на стадии инициации. Антирадикальное ингибирование осуществляется цепью: глутатион — аскорбат — токоферол (полифенолы), транспортирующей электроны в составе атомов водо-

рода от пиридиннуклеотидов (НАДН и НАДФН) к свободным радикалам. Это обеспечивает стационарный, крайне низкий уровень свободнорадикальных состояний липидов и биополимеров в клетке.

Аскорбиновая кислота является важным компонентом системы антиоксидантной защиты крови. Радикалы токоферола, биофлавоноидов регенерируются под влиянием аскорбиновой кислоты, находящейся в гидрофильном слое мембран.

До сих пор не определены все ферменты, в состав простетических групп которых входит витамин С. У видов, не синтезирующих витамин С (человек, морская свинка), аскорбиновая кислота оказывает экономизирующее действие в отношении витаминов В₁, В₂, А, Е, фолиевой, пантотеновой кислоты, снижая потребность в этих витаминах. Действие аскорбиновой кислоты тесно связано с действием глутатиона и токоферола. В целом витамин С вызывает физиологические эффекты, механизм которых ещё не раскрыт в полной мере, но их наличие убедительно продемонстрировано. Самый известный из них — стимуляция иммунной системы (Гуреева Н. В., 2011).

Аскорбиновая кислота необходима для синтеза интерферона и некоторых других цитокинов. Всасываясь в кровь, она быстро попадает в лейкоциты, усиливая их способность к хемотаксису. Интенсивнее всего нейтрофилы поглощают витамин С во время «дыхательного взрыва», необходимого для биосинтеза бактерицидных свободнорадикальных субстанций. После активации фагоцитов содержание в них аскорбиновой кислоты падает. Обогащённые аскорбиновой кислотой нейтрофилы усиливают свою способность распознавать и уничтожать (чаще путём фагоцитоза) собственные патологически изменённые клетки, бактериальные, вирусные и другие чужеродные агенты. В норме концентрация витамина С в нейтрофилах в 150 раз выше, чем в плазме. Витамин С улучшает иммунные реакции за счёт поддержания содержания витамина Е в крови и тканях (витамин Е в физиологических концентрациях также является стимулятором иммунной системы). Усиление пролиферации лимфоцитов наиболее выражено при одновременном назначении витаминов С и Е. Комбинация витаминов С, А и цинка стимулирует синтез антител (Ших Е. В., 2014).

Аскорбиновая кислота предотвращает пероксидацию холестерина в составе липопротеинов низкой плотности и тем самым препятствует прогрессированию атеросклероза. Витамин С улучшает способность организма усваивать кальций, способствует выведению токсичных металлов — меди, свинца и ртути. Он способствует активизации цитохрома P450 в печени, увеличивая метаболизм и детоксикацию ксенобиотиков. С участием аскорбиновой кислоты происходит метаболизм циклических нуклеотидов, простагландинов и гистамина (Тимирханова Г. А., 2007).

1.7. Витамин С и его нейропротекторные свойства

Кроме общеизвестной антискорбутной роли, витамин С (аскорбиновая кислота) является важным эндогенным антиоксидантом, защищающим нейроны от глутаматной токсичности. Диета, в которой поддерживаются адекватные уровни витамина С, снижает риск когнитивных нарушений и БА (Ребров В. Г., 2008).

При таких НДЗ, БА, БП, БГ, БАС и ряд других, отмечаются существенные нарушения окислительно-восстановительного баланса и компарментализации витамина С в нейронах, астроцитах и в межклеточном пространстве (Асийа А. I., 2013). Нейропротективная терапия цинком может быть существенно оптимизирована приемом витамином С. Аскорбиновая кислота является важным антиоксидантом с множеством клеточных функций. Она играет важную роль в процессах детоксикации, участвует в качестве ферментного коэнзима в модуляции синаптической активности (Himmelreich U. et al., 1998, Ishikawa T. et al., 1998) и нейронального метаболизма (Castro M. A., 2009).

Также она функционирует как ферментный кофактор, участвующий в биосинтезе коллагена (Peterkofsky B., 1991), карнитина (Padh H., 1990), тирозина и пептидных гормонов (Levine M., 1999). ЦНС (гипофиз) и надпочечники являются компартаментами, в которых концентрация аскорбиновой кислоты и аскорбат аниона максимальны (табл. 2).

Таблица 2 — Среднее содержание витамина С в тканях и органах человека

Ткань или орган	Содержание, мкмоль/л
Лимфоциты	3800
Моноциты	3100
Тромбоциты	2790
Гипофиз	2500
Надпочечники	2000
Нейтрофилы	1350
Мозг	850
Селезенка	750
Печень	750
Поджелудочная железа	750
Почки	600
Легкие	400
Скелетная мускулатура	250
Спинально-мозговая жидкость	200
Моча	200
Желудочный сок	136
Щитовидная железа	100
Плазма	50
Эритроциты	45

Аскорбиновая кислота обладает важными нейропротективными свойствами (Naseer M. I., 2011), поддерживая деятельность супероксиддисмутазы и каталазы (Santos I. M., 2009) и защищая нейроны от глутаматной токсичности, стимулирующей прогрессирование нейродегенеративных процессов (Qiu S., 2007).

Перемещение аскорбиновой кислоты из внутриклеточных резервуаров глиальных клеток в нейроны, вызванное синаптической активностью, поддерживает антиоксидантный ресурс нейронов. Усиленное всасывание аскорбиновой кислоты нейронами включает увеличение экспрессии транспортера SVCT2 на клеточной поверхности нейрона, приводя таким образом к увеличению поглощения аскорбиновой кислоты, необходимого для функционирования синапсов и нейротрансмиссии (Ghasemzadeh B., 1991) (рис. 8).

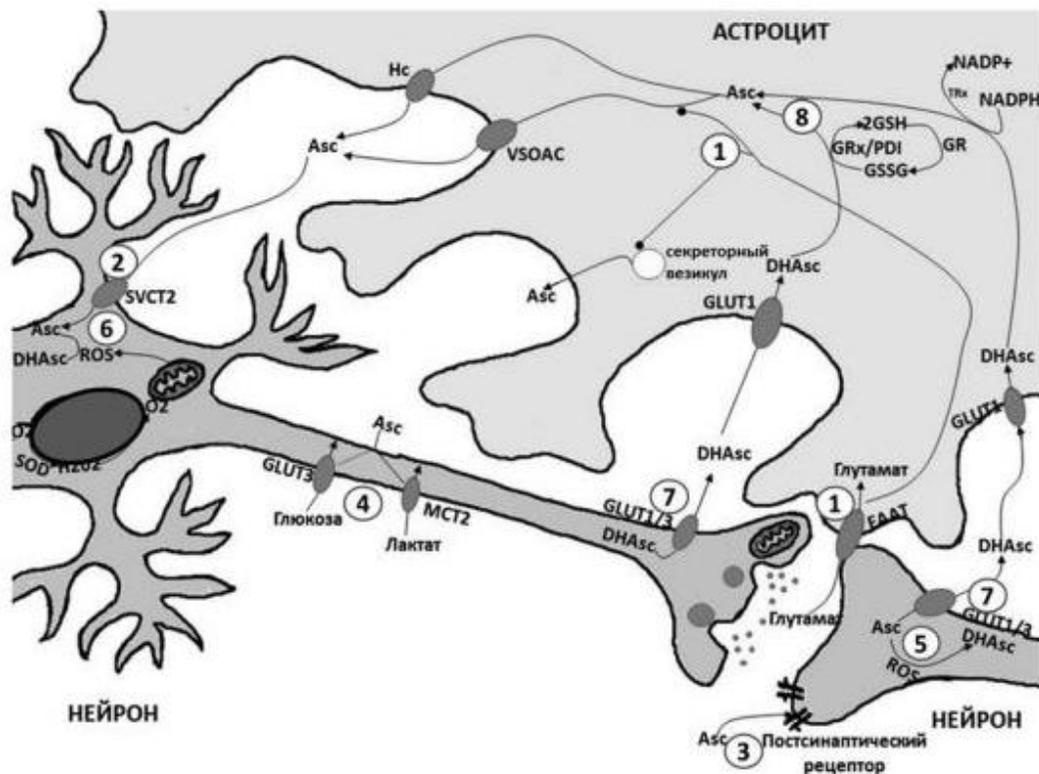


Рисунок 8 — Транспорт аскорбиновой кислоты в центральную нервную систему и функционирование синапса:

1 — после выделения глутамата в синаптическую щель глутамат посредством транспортера EAAT переносится через клеточную мембрану астроцита. В астроцитах глутамат стимулирует высвобождение аскорбата аниона или аскорбиновой кислоты (Asc) с помощью экзоцитоза секреторных везикул, посредством глутамат-аспартат-транспортера GLAST, канала VSOAC, а также при участии трансмембранного белка коннексина;

2 — аскорбиновая кислота поглощается нейронами при помощи Na-зависимого транспортера витамина C (SVCT2), участвует в качестве нейромодулятора в глутаматергических и ГАМК-ергических синапсах;

3 — аскорбиновая кислота участвует в качестве нейромодулятора в глутаматергических и ГАМК-ергических синапсах;

4 — аскорбиновая кислота способствует переключению предпочтения энергетического субстрата нейронного метаболизма с глюкозы на лактат во время синаптической активности;

5 — реактивные формы кислорода (ROS) образуются в ходе синаптической активности и метаболизма нейрона;

6 — ROS окисляют аскорбиновую кислоту до дегидроаскорбиновой кислоты (DHAsc);

7 — дегидроаскорбиновая кислота высвобождается из нейронов и захватывается астроцитами с помощью переносчиков глюкозы (GLUT-1);

8 — в астроцитах дегидроаскорбиновая кислота восстанавливается глутатионом (GSH — восстановленная форма глутатиона; GSSG — окисленная форма глутатиона) при участии глутатионзависимых редуктаз/дисульфид-изомераз (GRx/PDI) и тиоредоксина TRx (при участии никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADP))

Клинические исследования подтверждают взаимосвязь между обеспеченностью витамином С и когнитивными способностями. Во-первых, следует отметить, что более высокое потребление фруктов (что соответствует повышенному потреблению витамина С) существенно сказывается на когнитивной функции пожилых. В обследованных группах, где участники употребляли в пищу фрукты от одного до трех раз в день, установлено достоверное снижение риска когнитивных нарушений на 50% по сравнению с остальными участниками (Lee L., 2001). Исследование когнитивной функции у некурящих участников в возрасте от 45 до 102 лет показало, что употребление в пищу овощей и фруктов более четырех раз в сутки положительно сказывается на когнитивной функции (Polidori M. C., 2009).

Кросс-секционные исследования выявили положительную связь между пищевым потреблением витамина С и беглостью речи, абстрактным мышлением и решением проблем и когнитивным состоянием в целом, по оценке по краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) (McNeill G., 2011). Ряд исследований выявил связь между приемом витамина С и Е и когнитивными способностями у здоровых людей старше 60 лет (Goodwin F. K., 2007).

Обеспеченность витаминами, в частности витамином С, по оценке дневников питания, коррелирует с состоянием когнитивных функций у пациентов старше 65 лет. Поддержание нормального уровня витамина С в плазме крови является одним из перспективных способов замедления снижения когнитивных функций у пожилых.

В исследовании группы людей в возрасте 65–94 лет была выявлена значительная корреляция между уровнем содержания витамина С в плазме и состоянием когнитивных функций, в частности словарного запаса и понимания (Perrig W. J. et al., 1997; Wengreen H. J. et al., 2007). Исследование когорты из 3 тыс. наблюдаемых на протяжении семи лет показало, что темпы снижения когнитивных функций при оценке по MMSE были значительно ниже у тех людей, кто принимал большее количество витамина С, особенно в комбинации с витамином Е. При этом доза витамина С 500 мг/сут приводила к достоверному улуч-

шению когнитивных способностей, а дальнейшее наращивание дозы не имело эффекта (Wengreen H. J., 2007).

Кроме того, клинические исследования показали, что недостаточная обеспеченность витамином С способствует нейродегенерации. Как было отмечено выше, рециркуляция аскорбиновой кислоты в нейроны, обеспечиваемая астроцитами, и усвоение нейронами аскорбиновой кислоты посредством специфических транспортеров (SVCT2 и др.) являются важными механизмами в поддержании антиоксидантной защиты мозга. При НДЗ возникает дисбаланс в возрастающем производстве активных форм кислорода, с одной стороны, и снижением антиоксидантного ресурса нейронов и глии — с другой (O'Neill R. D., 1984).

Например, при БГ накопление абnormally свернутого белка изменяет митохондриальный биогенез и экспрессию генов антиоксидантой защиты, еще более увеличивая окислительные повреждения нейронов. Скопление амилоида при БА и БП также стимулирует генерацию АФК и гибель нейронов. Рециркуляция аскорбиновой кислоты в системе нейрон — астроцит — межклеточное пространство — нейрон при боковом амиотрофическом склерозе также замедлена.

Уровень витамина С был ниже у пациентов с БА по сравнению с контрольной группой (Rinaldi P., 2003). Поэтому аскорбиновая кислота была испытана в качестве нейропротективного агента для лечения БА и БАС (Fitzgerald K. C., 2013).

Употребление комбинированных добавок с витаминами С и Е оказывает защитное действие на когнитивные функции (в том числе при оценке внимания, памяти и речи), особенно в случаях сосудистой деменции (Okamoto K., 2009). Прием витамина С в дозе более 130 мг/сут в течение шести лет приводит к снижению риска развития БА (Engelhart M. J., 2002).

БАС — это НДЗ, сопровождающееся повреждением длинных моторных нейронов (Neumotin A., 2009). Установлено наличие системного оксидативного стресса у пациентов с БАС и более низкие уровни аскорбиновой кислоты в спинномозговой жидкости. Потребление пищи, богатой антиоксидантами, обеспечивает защиту против развития заболевания (Okamoto K., 2009).

БГ также является наследственным НДЗ. В моделях БГ у животных отмечены нарушения гомеостаза аскорбиновой кислоты (Rebec G. V., 1994). В частности, анализ экспериментальных моделей, экспрессирующих мутантный белок гентингина (mHtt), показал уменьшение внеклеточного пула аскорбиновой кислоты в нейронах стриатума (Dorner J. L., 2009).

В группе из 62 пациентов с БП (возраст $71 \pm 8,8$ года) показано, что уровень витамина С в лимфоцитах у лиц с тяжелыми формами заболевания был значительно ниже, чем при более легких формах (Ide K., 2015). Следует отметить, что аскорбат улучшает биодоступность леводопы при терапии БП (Nagayama H., 2004).

Таким образом, в соответствии с имеющимися результатами клинических исследований нейропротекция посредством витамина С эффективна и безопасна при использовании дозы 130–500 мг/сут. Также важно обеспечить высокую биодоступность витамина С, не принимать во время еды, использовать растворы витамина С или таблетки для рассасывания под языком. Известно, что биодоступность аскорбиновой кислоты из тонкого кишечника с возрастом заметно снижается. Поэтому у пожилых пациентов перспективно использование «подъязычной» лекарственной формы в виде таблеток для рассасывания и растворимых пленок. Такой путь введения обеспечивает бóльшую биодоступность аскорбиновой кислоты в ЦНС.

Физиологическая обеспеченность организма витамином С чрезвычайно важна для профилактики широкого круга неврологических заболеваний, повышает выживаемость пациентов с черепно-мозговой травмой и инсультом. Витамин С способствует снижению тяжести течения таких заболеваний, как черепно-мозговая травма, инсульт, СДВГ, БА, БГ, БП, способствует сохранению памяти, беглости речи, концентрации внимания.

Витамин С играет важную роль не только в поддержании антиоксидантного ресурса мозга, но и в регуляции синаптической активности, сохранении нейротрансмиссии, убиквитинзависимой деградации белков.

Описанные выше эффекты достигаются при использовании дотаций витамина С в дозе 130–500 мг/сут. Избыточные дозы микронутриентов, напротив, не снижают эффективность нейропротекции.

1.8. Стресс-протективное действие органических солей лития

Анализ литературы дает основание заключить, что повышение стрессоустойчивости ЦНС может быть достигнуто за счёт снижения уровня свободно-радикального окисления, оптимизации липидно-холестеролового и гормонального статуса при использовании антистрессовых препаратов нового поколения, к которым можно отнести аскорбат лития и цитрат лития.

В настоящее время постоянно разрабатывается множество лекарственных средств, проявляющих нейротропную активность, предназначенных и для людей, и для животных. Большинство этих веществ — продукты химического синтеза, которые в большей или меньшей степени являются чужеродными для организма и, в принципе, далеко небезразличны для здоровья животных.

Рассмотренные выше органические соли лития можно отнести к адаптогенам нового поколения. В отличие от многочисленных новых транквилизаторов и седативных веществ, у которых механизм действия направлен на взаимодействие с различными нейрорецепторами (ацетилхолиновыми, адренергическими, бензодиазепиновыми, барбитуратными, гистаминовыми, дофаминовыми), у аскорбата/цитрата лития механизм действия иной.

Все синтетические транквилизаторы работают по принципу неконкурентного ингибирования конкретных нейрорецепторов. В основе действия органических солей лития также лежит обратимое конкурентное взаимовлияние, но не с нейрорецепторами. Они воздействуют на психическую активность человека и животного, не затрагивая структуры мозга, их нейрорецепторный аппарат, и включаются в регуляцию нейросинаптической активности за счёт ингибирования ферментов, ответственных за главный метаболический путь деградации гамма-аминомасляной кислоты — ингибирование ГАМК-декарбоксилазы и ГАМК-аминотрансферазы. Есть основания считать такой способ повышения не только более эффективным, но, самое главное, — более физиологичным.

Для повышения стрессоустойчивости человека и животных необходим целенаправленный контроль интенсивности и направленности метаболизма посредством поддержания сбалансированности функций нервной, иммунной, антиоксидантной и монооксигеназной систем организма. Окислительный метаболический стресс сопровождается усилением состояния возбуждения в ЦНС и нейродегенеративной неупорядоченностью функций организма — нарушениями метаболических и физиологических процессов, иммунными отклонениями. Анализ данных литературы и результаты собственных исследований дают основание заключить, что органические соли лития комплексно воздействуют на нейрогуморальный статус и нормализуют его, а эффект от применения аскорбата/цитрата лития, во многом является следствием снижения интенсивности свободнорадикальных процессов, включая липопероксидацию.

Основные эффекты лития заключаются в том, что у человека и животных литий, поступающий с пищей и водой, поддерживает нормальную возбудимость ЦНС и тонус сосудов путём предотвращения подъёма концентрации норадреналина в ЦНС, а также регуляции потоков натрия в нервных и мышечных клетках. При достаточной обеспеченности литием чувствительность мозга к дофамину повышается, что снижает риск возникновения и распространения негативных последствий стресс-факторов.

Проведённый анализ указал на существование ряда параллельных механизмов воздействия лития на организм. Ионы лития, в частности, оказывают влияние на регуляцию артериального давления. Выявленное участие ионов лития в метаболизме простых сахаров, липидов и простагландинов позволяет предположить антиатеросклеротический и антидиабетический эффекты препаратов лития у человека. Ионы лития оказывают влияние на метаболизм и действие нейротрансмиттеров: энкефалинов, допамина, норадреналина, серотонина, ацетилхолина и др., а также повышают синтез нейротрофических факторов (прежде всего, BDNF) и, кроме того, чувствительность клеток ЦНС к воздействию нейротрофинов.

Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Распределение лития в биосубстратах при введении органических солей лития *per os*

Работа проводилась в период с 2014 по 2018 г. на кафедре фармакологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России.

2.1.1. Объект исследования

Исследование проведено на 180 белых крыс массой 200–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественной суточной смене дня и ночи. Доступ к воде и корму был свободным, световой режим естественным. Пищевой рацион включал стандартные брикеты, содержащие минеральные пищевые ингредиенты и витамины. Перед экспериментом животных выдерживали в течение 2 недель в карантинных условиях при температуре +21...+24°C, влажности 60–70% и естественном световом дне. Для опыта отбирали здоровых особей с чистым и гладким шерстным покровом, нормальной поведенческой активностью. Всего было использовано 18 групп. Каждая экспериментальная группа содержала по 10 особей. С целью достижения большей репрезентативности формируемой выборочной совокупности проводилась стратифицированная рандомизация по массе тела. Накануне эксперимента животных адаптировали к условиям лаборатории при стандартных климатических параметрах (температура +22...+24°C, влажность 60–70%) и неограниченном доступе к корму

и питью. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики и приказу МЗ и СР РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики». При проведении экспериментов были приняты меры, исключающие излишние физические страдания или повреждения животных. Исследование проводилось в соответствии с решением этического комитета ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России от 24 марта 2016 г.

2.1.2. Экспериментальные группы

В эксперименте животные случайным образом разделены на 18 групп: I–VIII группы — животные ($n = 10$), получавшие лития аскорбат *per os* (из расчета 1 мг/кг однократно); IX группа (контрольная) — животные ($n = 10$), не получавшие никаких солей лития. X–XVII группы — животные ($n = 10$) получавшие лития цитрат *per os* (из расчета 1 мг Li/кг однократно); XVIII группа (контрольная) — животные ($n = 10$), не получавшие никаких солей лития.

2.1.2. Приготовление растворов

Приготовление цитрата лития. Готовился раствор, 1 мл которого содержал 250 мкг элементного цитрата лития. Для получения дозы 1000 мкг/кг животному массой 250 г необходимо получить 250 мкг элементного лития, т. е. 1 мл раствора. Необходимый объем раствора рассчитывался исходя из массы животного. Для приготовления раствора использовался порошок цитрата лития. Молекулярная масса безводного цитрата лития — 218 г/моль, так что литий и цитрат-анион представлены в молярном соотношении 3 : 1, а в массовом соотношении 18 : 218, т. е. 1 : 12,1. Таким образом, 250 мкг элементного лития содержится

в $250 \times 12,1 = 3,025$ мг цитрата лития. Цитрат лития производства DSM Nutritional Products AG (Швейцария).

Приготовление аскорбата лития. Готовился раствор, 1 мл которого содержал 250 мкг элементного лития. Для получения дозы 1 000 мкг/кг животному массой 250 г необходимо получить 250 мкг элементного лития, т. е. 1 мл раствора. Необходимый объём раствора рассчитывался исходя из массы животного. Для приготовления раствора использовался порошок дигидрата аскорбата лития. Молекулярная масса безводного аскорбата лития — 178 г/моль, дигидрата аскорбата лития — 214 г/моль. В дигидрате аскорбата лития литий и аскорбат-анион представлены в молярном соотношении 1 : 1, а в массовом соотношении 1 : 71,33. Таким образом, 250 мкг элементного лития содержится в $250 \times 71,33 = 17,84$ мг дигидрата аскорбата лития. Аскорбат лития производства ООО «Нормофарм» (Россия).

2.1.3. Протокол экспериментального исследования

Вся работа с животными выполнялась на базе НИЦ ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России. Проводилось зондирование животных раствором органических солей лития в дозе 1 мг/кг (в расчете на элементный литий). Выбор данной дозы обусловлен тем, что эффекты органических форм лития достоверны уже при дозах в 30–100 мкг/кг (при приёме в течение 1–3 месяцев) (Гоголева И. В., 2009). Для исследования фармакокинетики и распределения лития в тканях было решено использовать однократное введение десятикратной дозы от 100 мкг/кг, т. е. 1 мг/кг. Так как LD50 аскорбата лития составляет 6 334 мг/кг, LD50 цитрата лития составил 1516,7 мг/кг, то доза в 1 мг/кг элементного лития в 1000 раз меньше среднелетальной дозы. В I подгруппе через 45 мин после введения аскорбата лития производилась декапитация с последующим отбором органов и биологических жидкостей,

во II подгруппе эксперимент проводился через 1 ч после введения соли лития, в III — через 1,5 ч, в IV — через 3 ч, в V — через 6 ч, в VI — через 12 ч, в VII — через 24 ч, в VIII — через 48 ч, IX подгруппа аскорбат лития не получала, производился забой лабораторных животных с последующим отбором органов и биологических жидкостей (рис. 9).

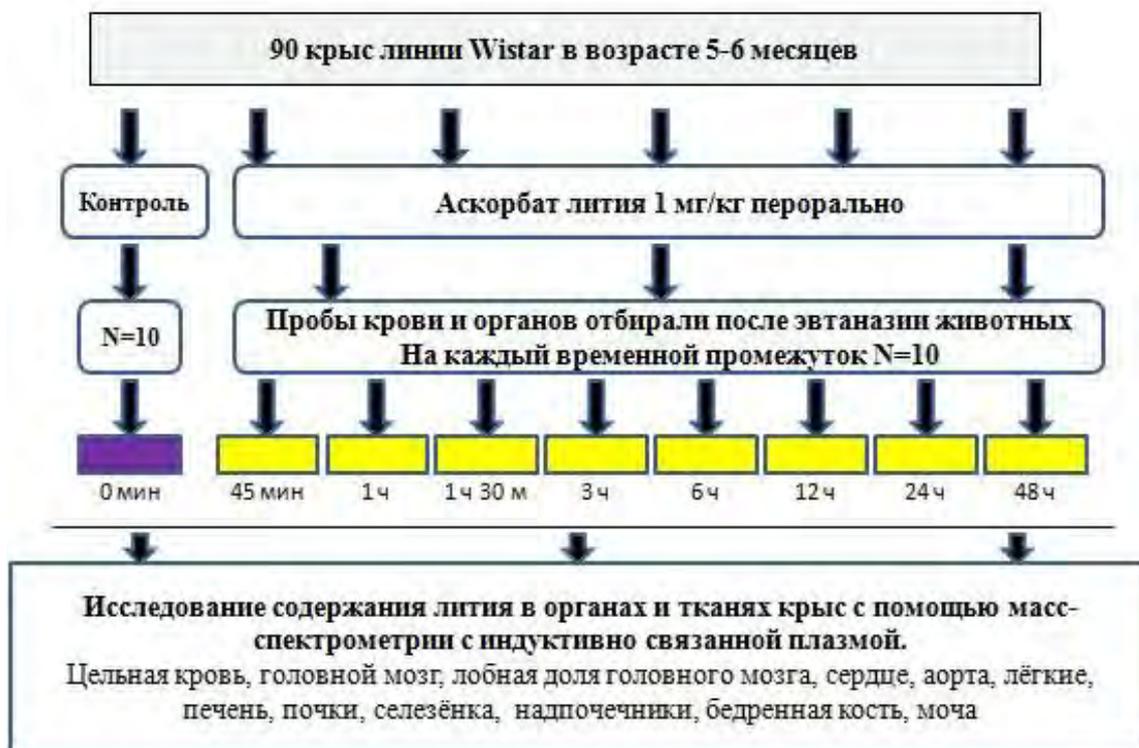


Рисунок 9 — Протокол экспериментального исследования при введении аскорбата лития *per os* в дозе 1 мг/кг

В X группе через 45 мин после введения цитрата лития производилась декапитация с последующим отбором органов и биологических жидкостей, в XI подгруппе эксперимент проводился через 1 ч после введения соли лития, в XII — через 1,5 ч, в XIII — через 3 ч, в XIV — через 6 ч, в XV — через 12 ч, в XVI — через 24 ч, в XVII — через 48 ч, XIX подгруппа цитрат лития не получала, производился забой лабораторных животных с последующим отбором органов и биологических жидкостей. Методом масс-спектрометрии определялся уровень лития в 11 различных биосубстратах: цельная кровь, головной мозг, лобная доля головного мозга, сердце, аорта, лёгкие, печень, почки, селезёнка, надпочечники, бедренная кость, моча (рис. 10).

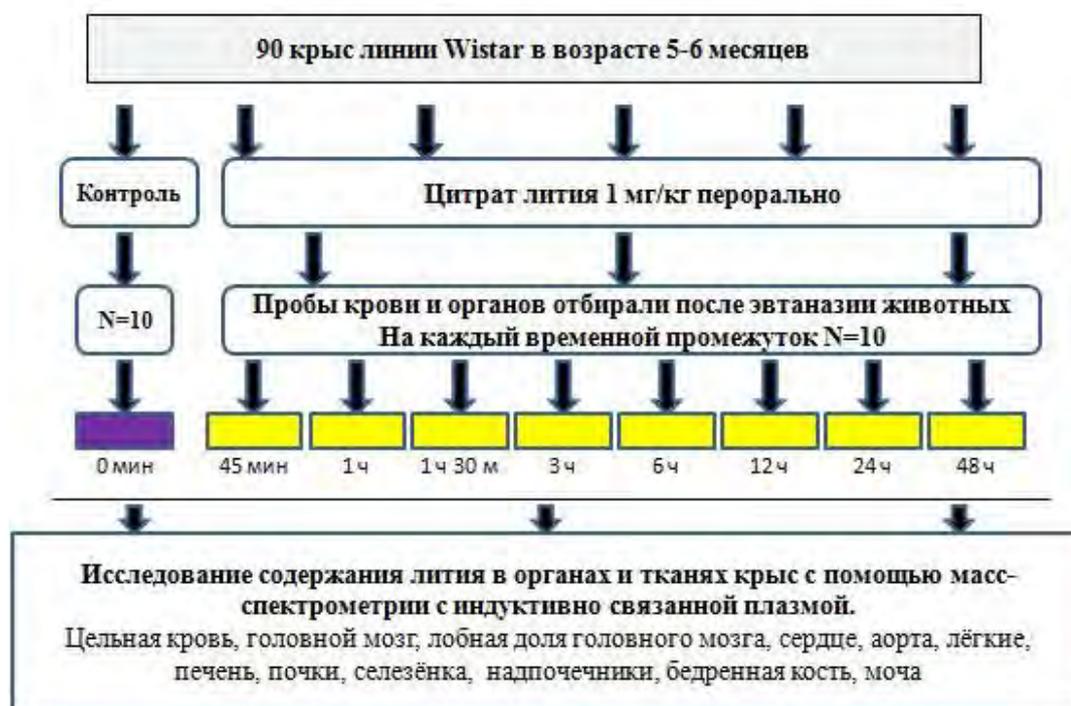


Рисунок 10 — Протокол экспериментального исследования при введении цитрата лития *per os* в дозе 1 мг/кг

2.1.4. Методы определения уровня лития в биосубстратах

Для определения уровня лития были получены гомогенаты тканей исследованных биосубстратов. Образцы гомогенатов отбирались в пластиковые пробирки и разбавлялись в 5 раз бидистиллированной и деионизированной водой. При проведении масс-спектрометрии в качестве внутреннего стандарта в растворы вводили индий в концентрации 25 мкг/л. Калибровочные растворы были приготовлены из стандартных растворов фирмы VTRC с известным содержанием в диапазоне от 5–1000 мкг/л (10–7%). Полученные растворы анализировались на масс-спектрометре с ионизацией в индуктивно связанной плазме Plasma Quad PQ2 Turbo (VG Elemental, Англия). Рабочая мощность СВЧ генератора была 1,3 кВт. Расход плазмообразующего газа (аргон) — 14 л/мин, транспортирующего газа — 0,89 мл/мин. Проводилось от 3 до 10 экспозиций каждого образца, время интегрирования сигнала составило 60 с.

2.1.5. Фармакокинетический анализ параметров биораспределения

Для настоящего исследования был использован метод фармакокинетического анализа с использованием электронных таблиц Excel, дополненного модулями программного пакета PKSolver (Ferreira A. J. M., 2009).

2.2. Моделирование нейродегенеративного повреждения нейронов головного мозга крыс

2.2.1. Объект исследования

В работе использовались 7–8-суточные культуры, полученные методом ферментно-механической диссоциации клеток мозжечка семидневных крыс по ранее описанной методике (Стельмашук Е. В., 2010). В исследовании было использовано свыше 2500 культур.

2.2.2. Получение диссоциированных монослойных культур

Вся работа с животными и культурами выполнялась на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Крысы получали летальную дозу эфирного наркоза, после чего 5 мин стерилизовались 70%-ным спиртом. Далее у животного быстро вскрывали череп, извлекали мозжечок и переносили его в пластиковую чашку Петри, заполненную фосфатным буфером, лишённым ионов кальция и магния. Фрагменты ткани инкубировали 15 мин при +37°C в фосфатном буфере, содержащем 0,05% трипси-

на, 0,02% этилендиаминтетрауксусной кислоты и 0,8% глюкозы. После инкубации ткань промывали в двух сменах фосфатного буфера и один раз средой культивирования, далее подвергали механической диссоциации в питательной среде для культивирования. В состав питательной среды входили 90% минимальной среды «Игла», 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ глутамина, 5 мМ калия хлорида и 10 мМ буфера Нерес, рН 7,2–7,4. Суспензию клеток центрифугировали в течение 1 мин при 1 000 об/мин, супернатант удаляли, а осадок ресуспендировали в питательной среде. Культивирование производили в 96-луночных пластиковых планшетах, покрытых полиэтиленмином или полилизинном, в питательной среде, где уровень хлорида калия доведён до 25 мМ. В каждую ячейку планшета добавляли по 0,1 мл суспензии клеток. Культивирование производили 7–8 суток в CO₂-инкубаторе, заполненном газовой смесью (95% воздуха + 5% CO₂), при температуре +35,5°C и относительной влажности 98%. К этому сроку культивированные зернистые нейроны (КЗН) достигали своей морфологической и нейрохимической зрелости (рис. 11).

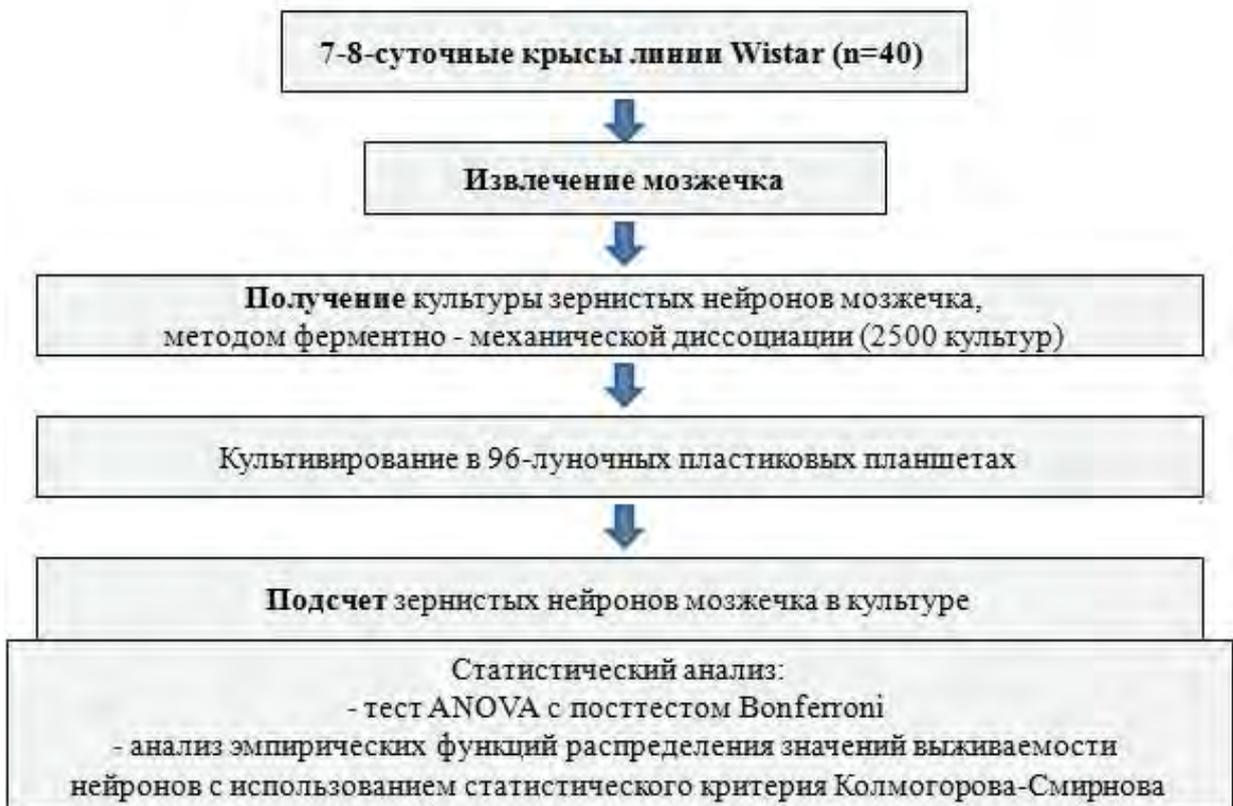


Рисунок 11 — Методика получения диссоциированных монослойных культур

По окончании экспериментов культуры зернистых нейронов мозжечка фиксировали 5 мин смесью спирта, формалина и ледяной уксусной кислоты в отношении 7 : 2 : 1 соответственно и окрашивали 2–5%-ным трипановым синим или ванадиевым гематоксилином, приготовленным непосредственно перед окрашиванием и содержащим 98 мл дистиллированной воды, 1 мл 10%-ного запасного раствора гематоксилина в этиловом спирте, 1 мл 0,5%-ного раствора метаванадата аммония и 1–2 капли ледяной уксусной кислоты. Фиксированные и промытые дистиллированной водой культуры окрашивали в растворе ванадиевого гематоксилина 15 мин, в результате чего клетки приобретали синий или сине-фиолетовый цвет. Окрашенные культуры промывали, обезвоживали в спиртах восходящих концентраций, ксилоле и заключали в канадский бальзам или заливали глицерином сразу после промывки водой, если культивирование проводилось в пластиковых камерах.

Состояние культур контролировали ежедневно и на каждом этапе эксперимента путем визуального просмотра в инвертированном микроскопе при фазовом контрасте (Aghdam S. Y., 2007). Ферментно-механическую диссоциацию ткани проводили по опубликованной методике (Андреева Н. А., 2000).

2.2.3. Приготовление растворов солей лития

Растворы солей лития готовились из сухих безводных солей. Неорганические соли лития (Lithium carbonate Li_2CO_3 , 1.05671.1000, сертификаты Ph Eur, BP, USP; Lithium chloride LiCl , 1.05679.0100, сертификаты Reag. Ph Eur) были производства фирмы «Merck» (Германия). Аскорбат лития производства ООО «Нормофарм» (Россия). Цитрат лития производства «DSM Nutritional Products AG» (Швейцария). Цитрат натрия был синтезирован в ФГБОУ ВО ИВ-ГМА Минздрава России.

2.2.4. Программа экспериментальных исследований

Исследование эффектов каждой соли лития проводили в 2 этапа: 1-й эксперимент, в котором изучалось воздействие различных концентраций солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , $\text{LiC}_6\text{H}_7\text{O}_6$, $\text{Li}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) и натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) на выживаемость КЗН без добавления глутамата, и 2-й эксперимент, в котором КЗН культивировались при различных концентрациях растворов солей лития и натрия в течение 5 суток, на 6-е сутки добавляли в культуру глутамат в концентрации 100 мкМ, затем регистрировали выживаемость КЗН в условиях глутаматного стресса.

В первом эксперименте сухие соли лития и натрия растворяли в деионизованной воде в концентрации 10 мМ, затем стерилизовали ультрафильтрацией и добавляли в среду культивирования на 2-е сутки *in vitro* на весь срок культивирования (до 7 суток). Выбраны концентрации солей лития и натрия: 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мМ (рис. 12).



Рисунок 12 — Воздействие различных концентраций солей лития и натрия на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без добавления глутамата

В перерасчете на элементарный литий раствор 0,1 мМ хлорида лития содержит 0,694 мг лития; 0,2 мМ хлорида лития содержит 1,388 мг лития; 0,5 мМ хлорида лития содержит 3,47 мг лития; 1 мМ хлорида лития содержит 6,94 мг лития. Раствор 0,1 мМ карбоната лития содержит 1,388 мг элементарного лития; 0,2 мМ карбоната лития содержит 2,776 мг лития; 0,5 мМ карбоната лития содержит 6,94 мг лития; 1 мМ карбоната лития содержит 13,88 мг лития. Раствор 0,1 мМ цитрата лития содержит 2,082 мг элементарного лития; 0,2 мМ цитрата лития содержит 4,164 мг лития; 0,5 мМ цитрата лития содержит 10,41 мг лития; 1 мМ цитрата лития содержит 20,82 мг лития. Раствор 0,1 мМ аскорбата лития содержит 0,694 мг элементарного лития; 0,2 мМ аскорбата лития содержит 1,388 мг лития; 0,5 мМ аскорбата лития содержит 3,47 мг лития; 1 мМ аскорбата лития содержит 6,940 мг лития.

Во втором эксперименте соли лития и натрия добавляли в среду культивирования на 2-е сутки *in vitro* на весь срок культивирования (до 7 суток). На 6-е сутки осуществлялось добавление в культуру глутамата в концентрации 100 мкМ. На 7-е сутки производился подсчет клеток (рис. 13).

Моделирование повреждения культур нейронов было вызвано глутаматом (Sigma, США, N.G-1626), который оказывал дозозависимый токсический эффект. Поскольку КЗН имеют рецепторы глутамата, а к 7-му дню *in vitro* происходит их созревание, их гиперстимуляция с помощью экзогенного глутамата вызывает гибель КЗН, что является удобной моделью нейродегенерации (Стельмашук Е. В., 2010). В исследовании использовали подсчет клеток при действии предполагаемых нейропротекторов, добавляя в среду токсические концентрации глутамата (100 мкМ).

Состояние культур контролировали ежедневно и на каждом этапе эксперимента путем визуального просмотра в инвертированном микроскопе при фазовом контрасте. Количественную оценку выживаемости клеток производили с помощью прямого подсчета нейронов с неизменной морфологией в пяти полях зрения. Такой подсчет дает адекватную оценку выживаемости нейронов по всему диаметру 96-луночного планшета. Клетки-зерна легко идентифицировать прижизненно как небольшие, 7–10 мкм в диаметре, округлые или овальные нейроны. При окраске фиксированных культур трипановым синим хорошо видны

ядра культивированных зернистых нейронов мозжечка, занимающие большую часть тел нейронов и окруженные тонким ободком цитоплазмы (рис. 14).



Рисунок 13 — Воздействие различных концентраций солей лития и натрия на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса

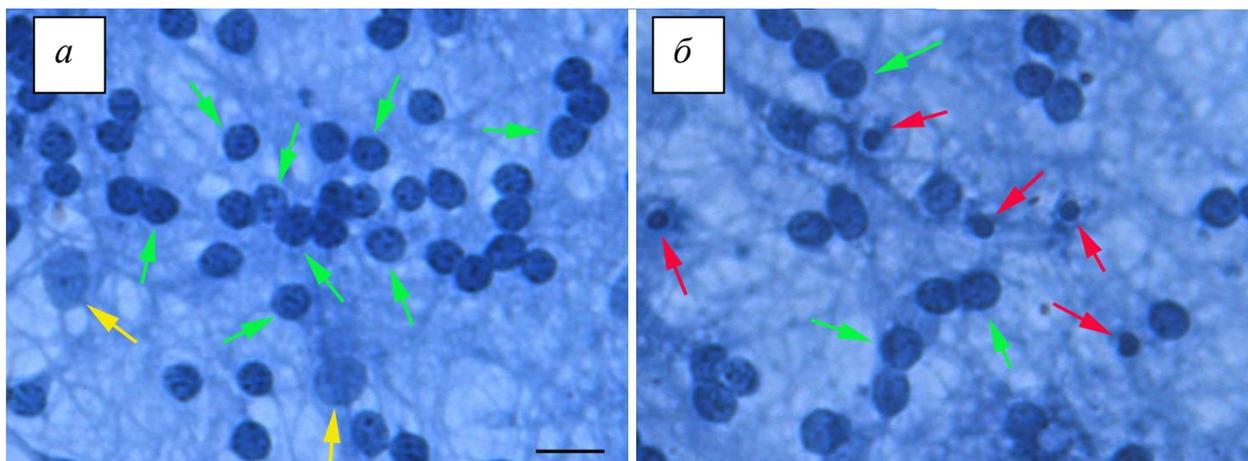


Рисунок 14 — Первичная диссоциированная фиксированная культура клеток мозжечка: *a* — контроль, *б* — обработка в течение 24 ч глутаматом. Зеленые стрелки указывают на зернистые нейроны с нормальной морфологией, желтые — на ядра глиальных клеток, красные — на пикнотические ядра погибших нейронов. Масштабный отрезок 15 мкм

Для каждого вещества было выполнено 5 экспериментов, при этом на каждую точку брали не менее 3 культур, в каждой из которых фотографировали и просчитывали по 5 последовательных полей. Количество нейронов с неизменной морфологией в контрольных культурах принимали за 100% выживаемости.

Все среды и добавки к ним, использованные для клеточных культур, были получены от Biochrom KG (Германия). Эфир тетраметилродамина — от Molecular Probes (США). Другие реагенты — от Sigma Chemicals (Германия).

2.2.5. Статистический анализ

Для настоящего анализа были использованы электронные таблицы Excel, программа Statistica 10. Статистический анализ полученных результатов проведен с использованием теста ANOVA с поправкой Бонферрони и теста Данна. Отличия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты выражали как среднее \pm стандартное отклонение. Результаты исследований для каждой соли представлены в виде соответствующих эмпирических функций распределения (э. ф. р.) значений выживаемости нейронов при различных условиях, затем более подробно рассматривались отдельные серии экспериментов. Вычисление эмпирических функций распределения позволяет обобщать результаты независимых серий экспериментов и применять один из наиболее чувствительных критериев статистической значимости — критерий Колмогорова — Смирнова.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Оценка фармакокинетических параметров биораспределения лития при приёме органических солей

3.1.1. Биораспределение лития при приёме аскорбата лития

Нами была проведена оценка фармакокинетических параметров аскорбата лития в биосубстратах крыс после его введения *per os* экспериментальным животным в дозе 1 мг/кг (табл. 3). В результате фармакокинетического эксперимента были получены фармакокинетические кривые, т. е. зависимости концентраций от времени для гомогенатов тканей различных органов.

Бескамерный анализ позволяет охарактеризовать повсеместно используемые фармакокинетические параметры соединения: максимальная концентрация лития в биосубстрате (C_{\max}), время достижения максимальной концентрации (t_{\max}), последняя измеренная концентрация лития (C_{last}), площадь под кривой (AUCt), среднее время удержания (MRTt), наклон участка финального выведения (Lz), период полувыведения ($T_{1/2}$), клиренс (CL). Параметры бескамерной модели были рассчитаны для всех исследованных биосубстратов на основании соответствующих фармакокинетических кривых (табл. 4).

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 15) показал, что C_{\max} лития в цельной крови после его приема *per os* в дозе 1 мг/кг произошла через 1,5 ч и составила 50,59 мкг/л. Lz , включающий в себя последние 3–4 точки фармакокинетической кривой для цельной крови, составил 0,005 1/ч. $T_{1/2}$ аскорбата лития после приема *per os* — 140,65 ч.

Для цельной крови характерно низкое значение наклона участка финального выведения и высокое — периода полувыведения. Продолжительный период полувыведения создает условия для длительного насыщения тканей литием, что позволяет создавать высокие концентрации в органах и тканях.

Таблица 3 — Фармакокинетические параметры для бескамерной модели при введении аскорбата лития в дозе 1 мг/л

Время после введения аскорбата лития	Концентрации лития в биосубстратах животных, определенные в эксперименте, мкг/л										
	Цельная кровь	Головной мозг	Лобная доля	Печень	Сердце	Аорта	Легкие	Почки	Селезенка	Надпочеч- ники	Бедренная кость
45 мин	35,59 ± 4,42	25,81 ± 4,28	38,97 ± 4,12	42,69 ± 4,78	21,18 ± 4,04	22,31 ± 5,48	20,06 ± 4,13	30,62 ± 3,59	28,28 ± 4,05	35,86 ± 4,77	18,75 ± 3,88
1 ч	50,39 ± 5,32	39,31 ± 4,53	51,94 ± 4,37	68,18 ± 5,98	32,26 ± 8,71	31,60 ± 5,65	29,84 ± 3,71	48,85 ± 4,76	34,81 ± 3,86	39,51 ± 3,42	25,99 ± 3,26
1 ч 30 мин	50,59 ± 5,74	46,51 ± 5,12	50,65 ± 3,65	93,39 ± 6,03	65,40 ± 4,54	39,19 ± 4,43	31,82 ± 3,71	45,18 ± 5,21	36,03 ± 4,44	45,58 ± 4,13	30,78 ± 3,69
3 ч	42,99 ± 5,56	32,81 ± 6,96	47,83 ± 3,95	87,19 ± 4,99	61,79 ± 5,35	32,89 ± 4,50	25,47 ± 4,37	38,26 ± 5,49	38,48 ± 4,44	46,18 ± 4,14	38,73 ± 4,64
6 ч	40,62 ± 4,37	33,67 ± 4,85	45,46 ± 5,12	50,28 ± 4,55	60,29 ± 4,89	31,77 ± 4,43	27,68 ± 4,85	37,26 ± 4,10	37,69 ± 2,49	46,45 ± 3,62	31,53 ± 2,02
12 ч	37,32 ± 3,11	30,54 ± 4,16	45,55 ± 3,84	43,81 ± 5,01	52,65 ± 3,83	32,84 ± 4,75	30,89 ± 5,42	34,82 ± 3,42	44,72 ± 5,36	52,47 ± 4,17	31,74 ± 5,81
24 ч	35,08 ± 3,86	29,69 ± 4,53	43,61 ± 3,88	38,81 ± 3,92	44,17 ± 6,04	23,57 ± 4,56	23,11 ± 5,39	32,42 ± 4,43	39,59 ± 4,07	38,18 ± 4,29	42,42 ± 6,24
48 ч	33,71 ± 3,13	23,99 ± 6,50	40,50 ± 4,81	30,41 ± 5,62	28,97 ± 4,77	24,21 ± 4,49	17,46 ± 3,68	32,02 ± 4,64	25,56 ± 5,62	33,95 ± 5,89	31,10 ± 2,04
Контроль	35,59 ± 0,79	35,59 ± 0,79	35,59 ± 0,79	35,59 ± 0,79	35,59 ± 0,79	35,59 ± 0,79	35,59 ± 0,79	35,59 ± 0,79	35,59 ± 0,79	35,59 ± 4,77	35,59 ± 0,79

Таблица 4 — Фармакокинетические параметры бескамерной модели аскорбата лития при введении в дозе 1 мг/л

Биосубстрат	C_{\max} , мкг/л	t_{\max} , ч	C_{last} , мкг/л	AUC_t , мкг/л×ч	MRT_t , ч	L_z , л/ч	$T_{1/2}$, ч	CL , л/ч	V_d , л
Цельная кровь	50,59	1,50	33,71	1750	22,9	0,005	140,65	0,029	5,91
Головной мозг	46,51	1,50	23,99	1406	22,2	0,007	96,71	0,053	7,34
Лобная доля	51,94	1,00	40,51	2094	23,3	0,003	209,71	0,017	5,27
Сердце	65,40	1,50	28,98	2123	20,6	0,017	40,87	0,065	3,85
Аорта	39,20	1,50	24,22	1300	22,2	0,008	89,62	0,056	7,30
Лёгкие	31,82	1,50	17,47	1144	21,3	0,010	66,59	0,089	8,51
Печень	93,39	1,50	30,41	2031	20,3	0,018	38,91	0,067	3,75
Почки	48,85	1,00	32,02	1625	23,1	0,004	179,31	0,025	6,53
Селезёнка	44,73	12,00	25,56	1749	21,7	0,009	73,65	0,056	5,95
Надпочечники	52,47	12,00	33,95	1969	22,0	0,008	84,48	0,041	4,99
Бедренная кость	42,43	24,00	31,10	1710	23,9	0,002	451,44	0,011	7,41
Моча	19,12	6,20	10,56	638	21,7	0,012	56,33	0,172	14,00

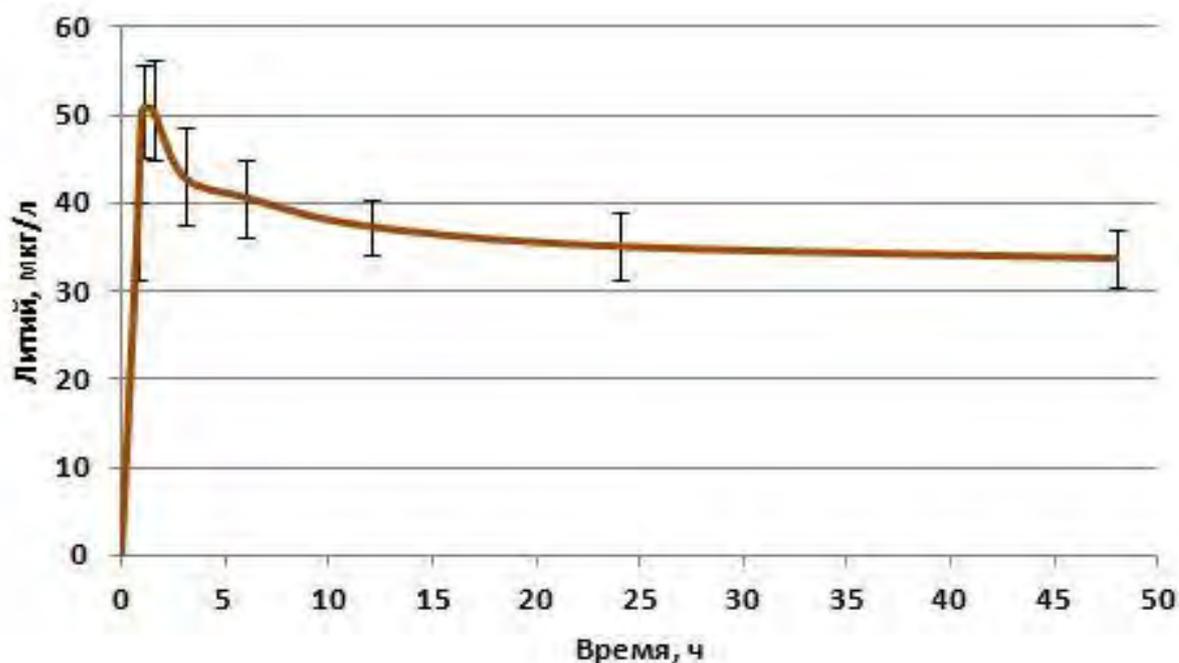


Рисунок 15 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в цельной крови при введении аскорбата лития

При анализе фармакокинетической кривой (рис. 16) мы видим, что C_{\max} лития в головном мозге после его приема *per os* в дозе 1 мг/кг произошла через 1,5 ч и составила 46,51 мкг/л. Lz составил 0,007 1/ч. $T_{1/2}$ лития после приема *per os* — 96,71 ч.

Для распределения в головном мозге характерно низкое значение наклона участка финального выведения и высокое — периода полувыведения, что свидетельствует о поддержании стабильных концентраций иона лития в головном мозге.

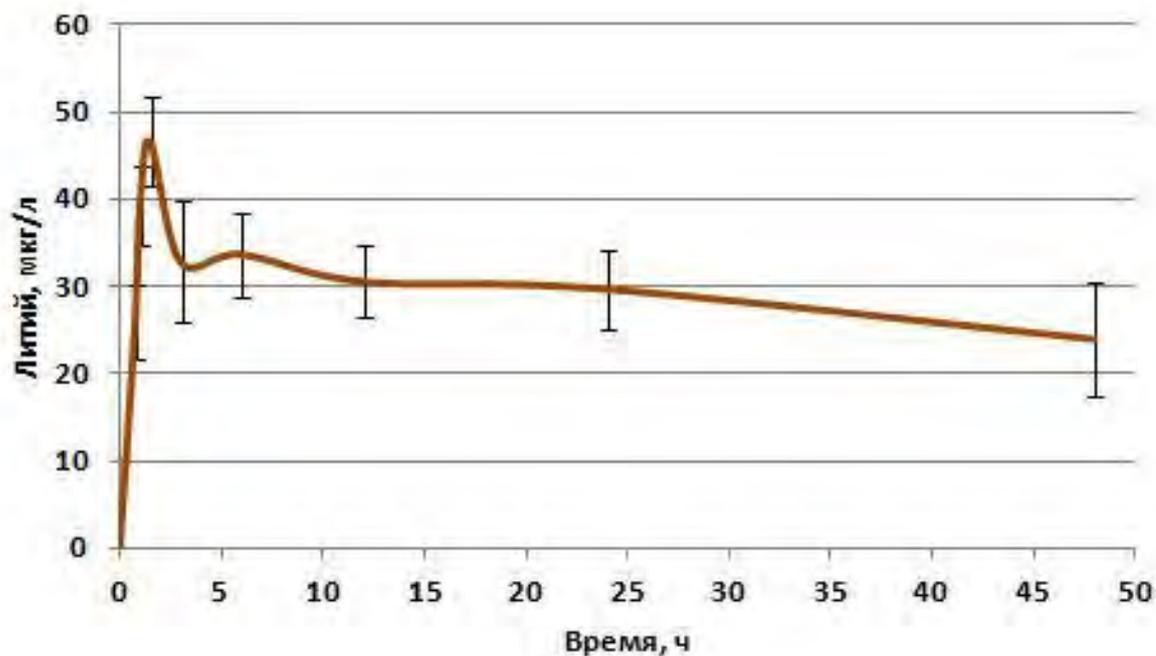


Рисунок 16 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате головного мозга

C_{\max} аскорбата лития в лобной доле головного мозга после введения *per os* в дозе 1 мг/кг (рис. 17) была достигнута через 1 ч и составила 51,94 мкг/л. CL составил 0,017 л/ч после введения *per os* в дозе 1 мг/кг. MRT после приема *per os* составило 23,3 ч. AUC_t — 2094 мкг/л×ч. Lz , включающий в себя последние 3–4 точки фармакокинетической кривой для цельной крови — 0,003 1/ч. $T_{1/2}$ аскорбата лития после приема *per os* — 209,71 ч.

Из результатов исследования видно, что наиболее стабильно литий накапливается именно в лобной доле, $C_{last} = 40,5$ мкг/л — самая высокая концентрация через 48 ч среди всех исследованных биосубстратов. Этот вывод подтверждает и значение площади под кривой. MRT было достаточно высоким — 23,3 ч, выше, чем

у других биосубстратов. Также было установлено низкое значение Lz и высокое — $T_{1/2}$ ($Lz = 0,007$ 1/ч, $T_{1/2} = 210$ ч). Накопление лития в лобной доле подтверждается наиболее низким клиренсом именно для этого биосубстрата ($CL = 0,017$ л/ч). После введения *per os* в дозе 1 мг/кг (рис. 18). C_{max} лития в печени была достигнута через 1,5 ч и составила 93,39 мкг/л. AUC_t , составила 2031 мкг/л×ч.

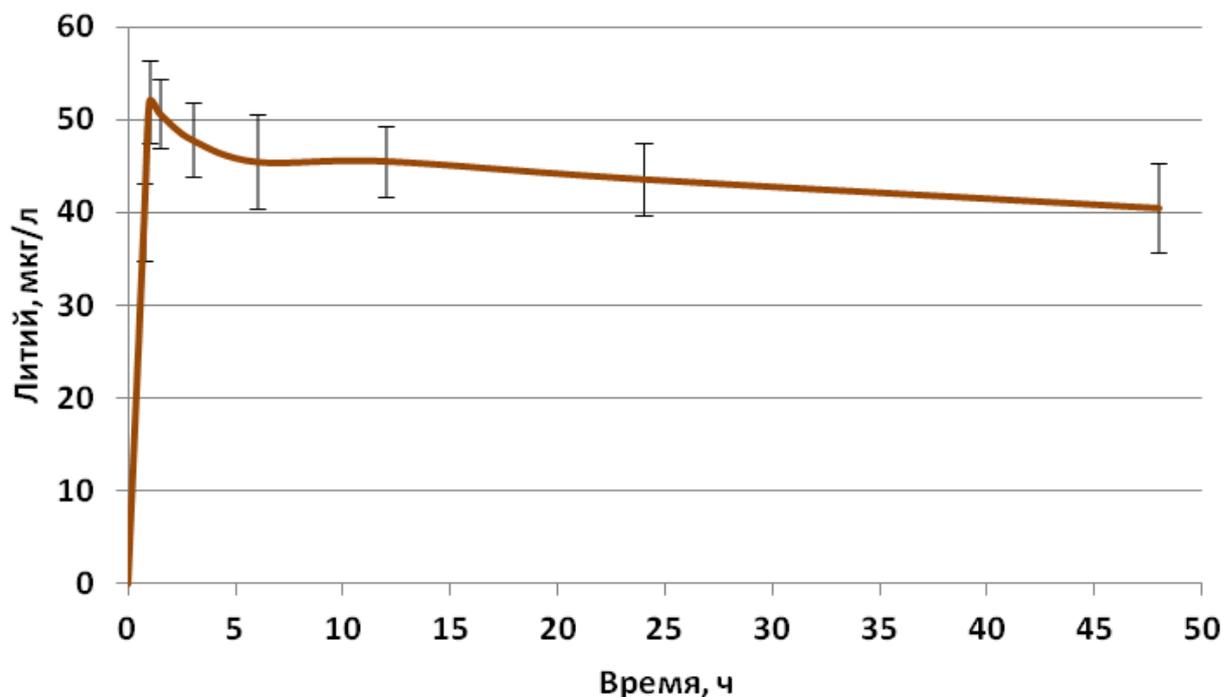


Рисунок 17 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате лобной доли головного мозга

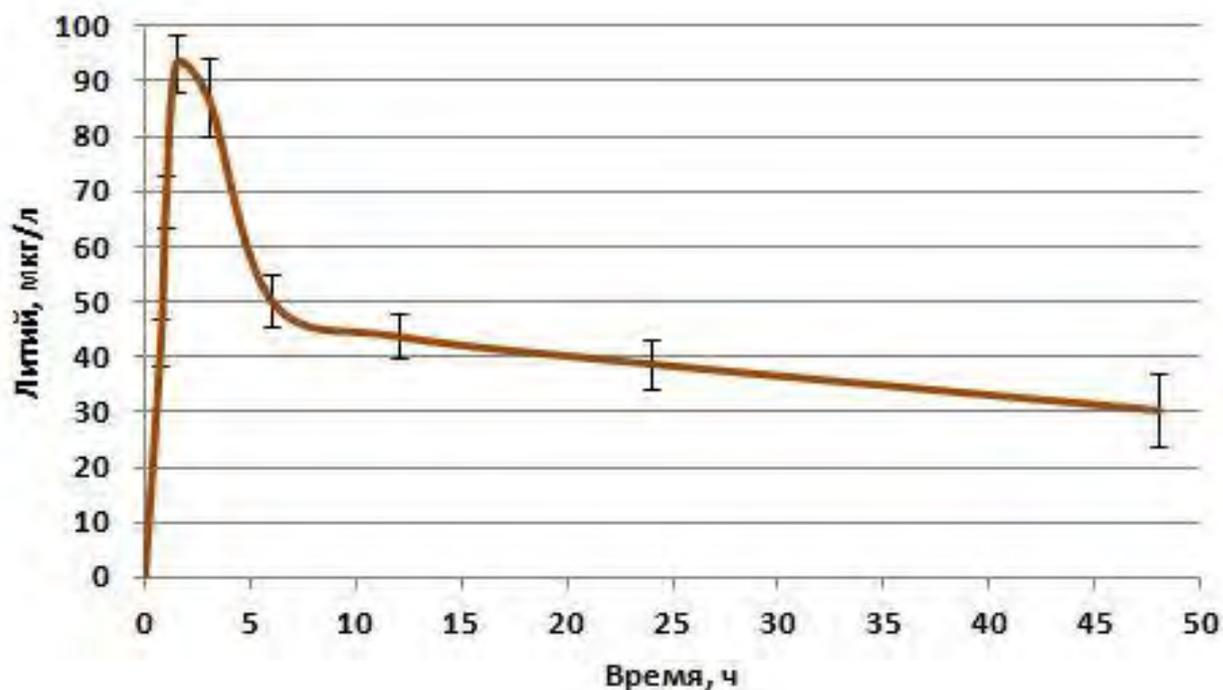


Рисунок 18 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате печени

Аскорбат лития активно поглощается печенью, проходя процесс метаболизации. Этот вывод подтверждает и значение площади под кривой: AUC_t составила 2031 мкг/л×ч, C_{max} была достигнута через 1,5 ч и составила 93,39 мкг/л.

В результате анализа биораспределения (рис. 19) мы видим, что C_{max} лития в сердце после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг произошла через 1,5 ч и составила 65,40 мкг/л.

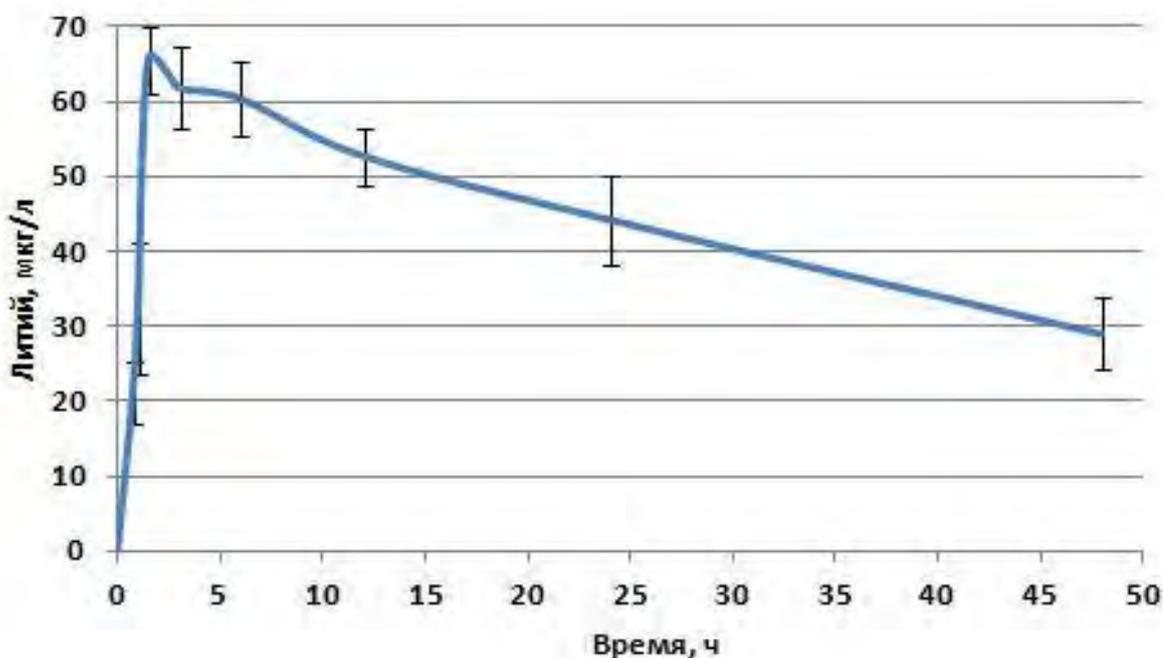


Рисунок 19 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате сердца

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 20) показал, что C_{max} аскорбата лития в аорте после введения *per os* в дозе 1 мг/кг была достигнута через 1,5 ч и составила 39,20 мкг/л

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 21) показал, что C_{max} аскорбата лития в легких после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигла через 1,5 ч и составила 31,82 мкг/л.

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 22) показал, что C_{max} аскорбата лития в почках после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг была достигнута через 1,5 ч и составила 48,85 мкг/л.

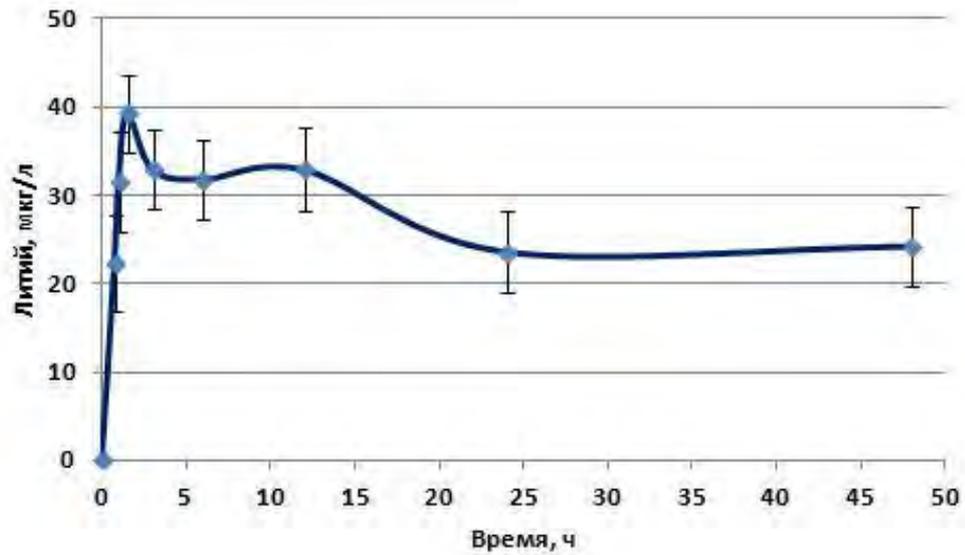


Рисунок 20 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате аорты

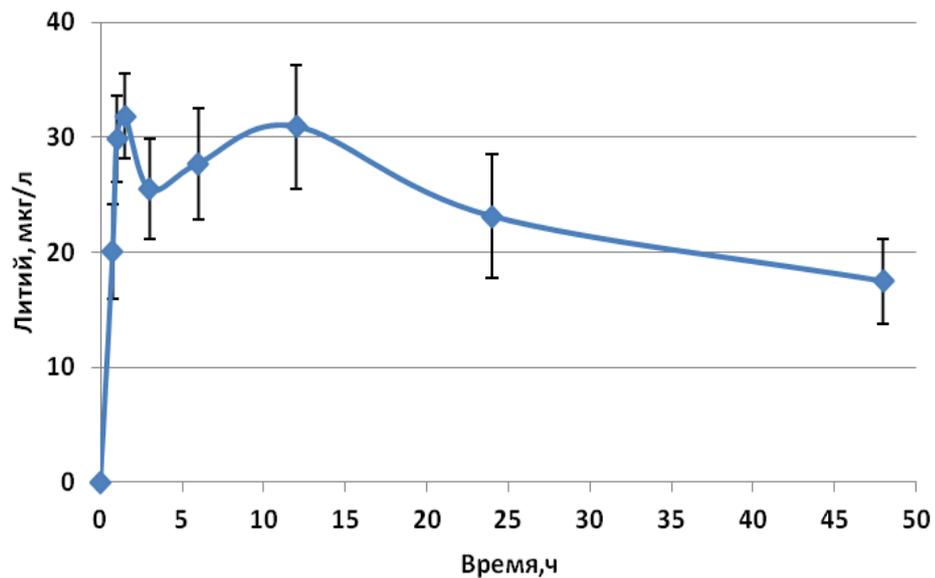


Рисунок 21 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате легких

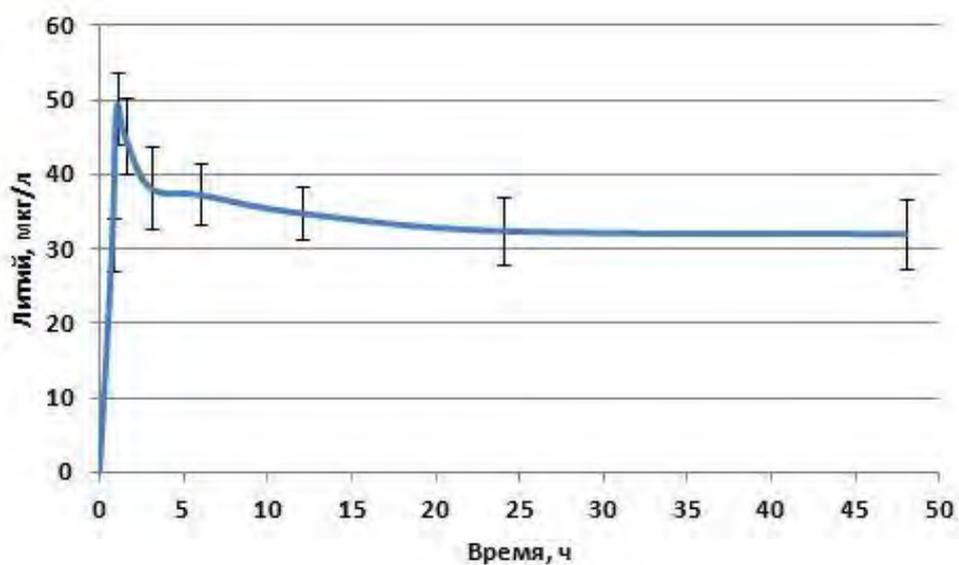


Рисунок 22 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате почек

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 23) показал, что C_{\max} аскорбата лития в селезенке после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг была достигнута через 12 ч и составила 44,73 мкг/л.

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 24) показал, что C_{\max} аскорбата лития в надпочечниках после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг была достигнута через 12 ч и составила 52,47 мкг/л.

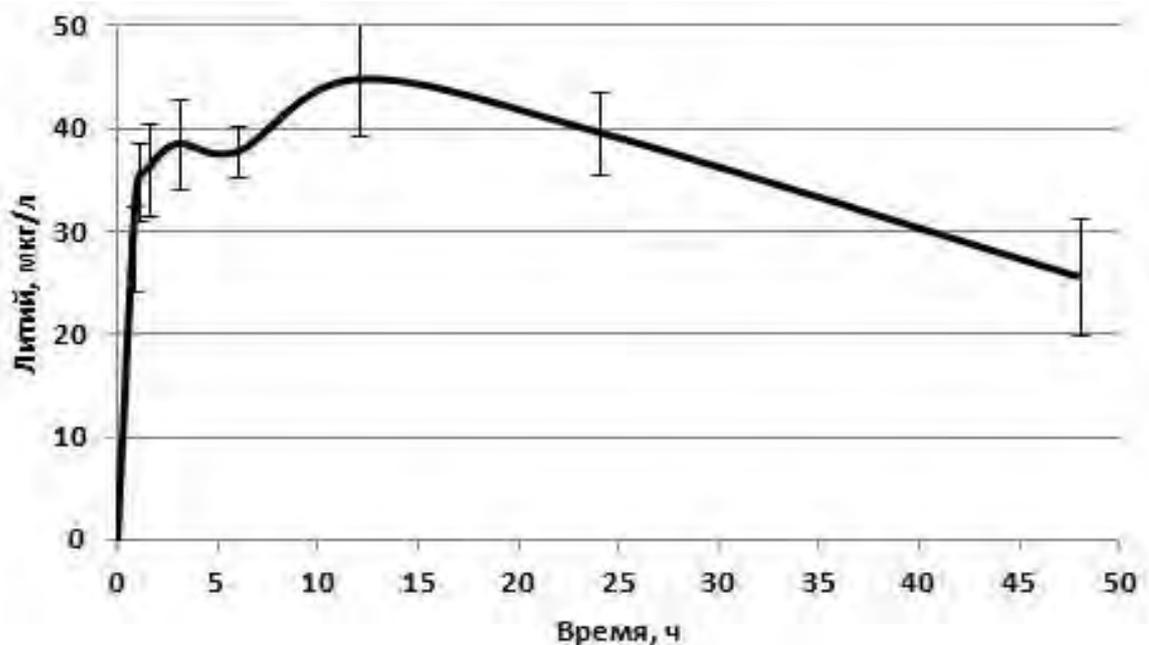


Рисунок 23 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате селезенки

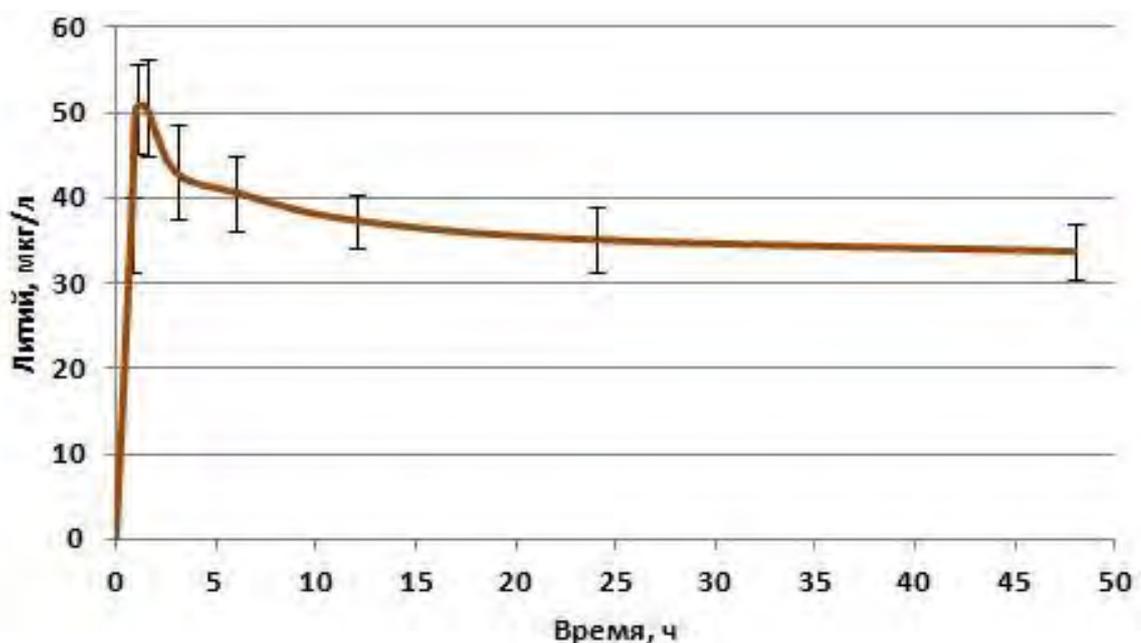


Рисунок 24 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате надпочечников

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 25) показал, что C_{\max} аскорбата лития в бедренной кости после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг произошла через 24 ч и составила 42,43 мкг/л. CL составил 0,011 л/ч после введения *per os* в дозе 1 мг/кг. Lz, включающий в себя последние 3–4 точки фармакокинетической кривой для цельной крови — 0,002 1/ч. $T_{1/2}$ аскорбата лития после введения *per os* — 451,44 ч.

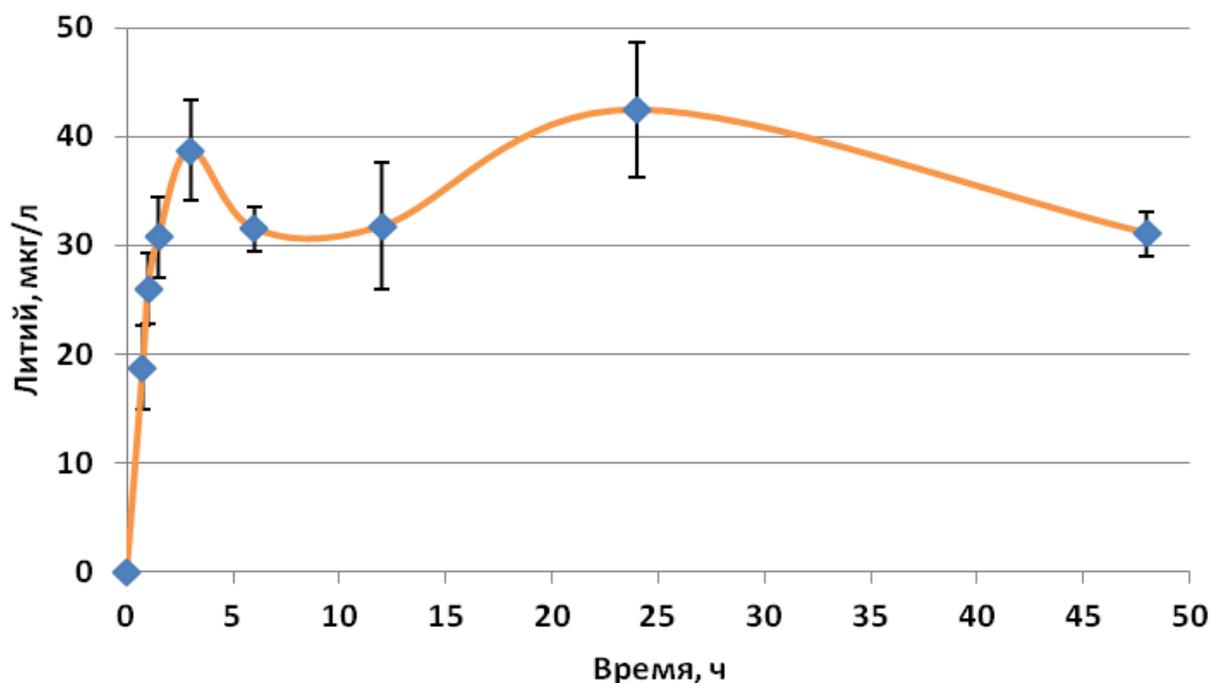


Рисунок 25 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате бедренной кости

Низкое значение Lz и высокое значение $T_{1/2}$ характерно для бедренной кости (Lz = 0,002 1/ч, $T_{1/2}$ = 451 ч). Накопление лития в кости подтверждается наиболее низким значением CL (0,011 л/ч).

Полученные в рамках бескамерного анализа фармакокинетические параметры аскорбата лития позволяют сделать следующие выводы. Время достижения C_{\max} для аскорбата лития составило 1–1,5 ч для большинства биосубстратов (цельная кровь, головной мозг, лобная доля головного мозга, сердце, аорта, легкие, печень, почки), за исключением селезёнки, надпочечников и бедренной кости, в которых время достижения максимума варьировалось от 12 до 24 ч.

Наиболее стабильно литий накапливается именно в лобной доле головного мозга, последняя измеренная концентрация лития составила 40,5 мкг/л — самая высокая концентрация через 48 ч среди всех исследованных биосубстратов. Накопление лития в лобной доле головного мозга подтверждается и значением площади под кривой: для лобной доли она составила 2094 мкг/л×ч, в то время как, например, для печени, где были отмечены наиболее высокие пиковые концентрации лития — 2031 мкг/л×ч. Литий эффективно накапливался также в сердце (AUCt = 2123 мкг/л×ч) и в надпочечниках (AUCt = 1969 мкг/л×ч).

Для цельной крови было характерно низкое значение наклона участка финального выведения ($L_z = 0,005$ 1/ч) и высокое — периода полувыведения ($T_{1/2} = 141$ ч), для лобной доли головного мозга — $L_z = 0,007$ 1/ч, $T_{1/2} = 210$ ч, для почек — $L_z = 0,004$ 1/ч, $T_{1/2} = 179$ ч, для бедренной кости — $L_z = 0,002$ 1/ч, $T_{1/2} = 451$ ч. Накопление лития в данных биосубстратах подтверждается наиболее низким клиренсом именно для этих органов. Так, в лобной доле головного мозга клиренс составил 0,017 л/ч; в бедренной кости — 0,011 л/ч.

Таким образом, мы можем сделать вывод, что аскорбат лития способствует поддержанию стабильных концентраций иона лития в цельной крови и в головном мозге, что важно для осуществления профилактического и терапевтического потенциала иона лития.

3.1.2. Биораспределение лития при приёме цитрата лития

Исходные данные приведены в табл. 5, где указано время после введения цитрата лития в часах и минутах в девяти временных точках — 0 мин (контроль) 45 мин, 1 ч, 1,5 ч, 3 ч, 6 ч, 12 ч, 24 ч, 48 ч, концентрации лития в биосубстратах животных, определенные в эксперименте (С) со стандартным отклонением (S).

Таблица 5 — Содержание лития в биосубстратах после перорального введения крысам в дозе 1 мг/кг

Время после введения аскорбата лития	Концентрации лития в биосубстратах животных, определенные в эксперименте, мкг/л										
	Цельная кровь	Головной мозг	Лобная доля	Сердце	Аорта	Легкие	Печень	Почки	Селезенка	Надпочеч- ники	Бедренная кость
45 мин	37,15 ± 4,52	28,67 ± 4,31	39,74 ± 6,06	22,80 ± 3,78	20,68 ± 3,45	18,65 ± 3,41	37,36 ± 4,66	31,78 ± 3,64	24,62 ± 5,04	35,71 ± 3,71	17,92 ± 3,76
1 ч	43,27 ± 4,08	38,67 ± 5,02	51,01 ± 5,27	32,44 ± 6,64	30,52 ± 3,33	26,20 ± 4,36	62,87 ± 5,67	47,71 ± 6,06	30,91 ± 4,97	37,88 ± 3,78	29,68 ± 4,01
1 ч 30 мин	54,11 ± 4,09	41,76 ± 6,64	47,01 ± 5,71	66,10 ± 9,13	22,24 ± 4,23	24,01 ± 5,28	89,83 ± 10,69	44,06 ± 5,52	31,37 ± 4,14	45,51 ± 7,55	28,53 ± 6,71
3 ч	43,82 ± 5,69	26,23 ± 7,63	44,43 ± 6,99	69,58 ± 4,99	23,68 ± 3,56	23,91 ± 4,81	88,78 ± 6,39	36,59 ± 6,41	33,80 ± 6,32	42,95 ± 4,71	38,78 ± 4,45
6 ч	40,90 ± 6,46	33,52 ± 4,78	52,97 ± 5,71	65,95 ± 5,41	28,31 ± 7,87	26,88 ± 6,92	47,17 ± 7,69	37,89 ± 5,77	36,65 ± 4,96	46,78 ± 5,15	31,32 ± 5,54
12 ч	39,95 ± 5,05	27,60 ± 4,34	51,46 ± 6,82	68,42 ± 4,44	31,20 ± 4,43	32,81 ± 4,43	44,87 ± 5,36	35,68 ± 4,52	45,66 ± 3,49	56,65 ± 6,39	36,87 ± 5,94
24 ч	34,91 ± 4,11	33,14 ± 7,3	49,81 ± 4,96	29,63 ± 4,99	26,72 ± 3,78	31,02 ± 3,61	35,55 ± 6,07	30,43 ± 6,29	41,90 ± 5,16	39,99 ± 3,72	40,79 ± 3,61
48 ч	33,71 ± 3,25	35,66 ± 3,92	36,23 ± 4,32	29,67 ± 6,25	38,92 ± 7,73	17,02 ± 7,27	31,66 ± 4,93	36,53 ± 7,61	27,07 ± 3,91	34,55 ± 6,02	38,51 ± 6,56
Контроль	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12	25,42 ± 2,12

В результате фармакокинетического эксперимента были получены фармакокинетические кривые, т. е. зависимости концентраций от времени для гомогенатов тканей различных органов.

Параметры бескамерной модели были рассчитаны для всех исследованных биосубстратов на основании соответствующих ФК-кривых (табл. 6).

Таблица 6 — Значения фармакокинетических параметров для бескамерной модели при введении в дозе 1 мг/л

Биосубстрат	C_{\max} , мкг/л	t_{\max} , ч	C_{last} , мкг/л	AUC_t , мкг/л×ч	MRT_t , ч	L_z , 1/ч	$T_{1/2}$, ч	CL , л/ч	V_d , л
Цельная кровь	54,11	1,50	33,71	1776,35	22,70	0,0048	145,86	0,0141	2,97
Головной мозг	41,77	1,50	31,00	1551,65	23,67	0,0012	602,62	0,0044	3,81
Лобная доля	52,98	6,00	36,23	2230,21	22,32	0,0092	75,72	0,0202	2,21
Сердце	69,58	3,00	29,64	2588,14	20,25	0,0202	34,25	0,0308	1,52
Аорта	38,92	24,00	26,72	1538,49	23,76	0,0019	356,11	0,0082	4,21
Лёгкие	32,82	12,00	17,02	1281,33	21,61	0,0131	53,03	0,0484	3,70
Печень	89,83	1,50	31,66	1979,30	20,45	0,0097	71,25	0,0239	2,46
Почки	47,71	1,00	36,53	1649,55	23,89	0,0006	1143,00	0,0020	3,33
Селезёнка	45,67	12,00	27,08	1794,92	22,24	0,0095	72,96	0,0269	2,83
Надпочечники	56,66	12,00	34,56	2041,13	22,02	0,0096	71,97	0,0222	2,31
Бедренная кость	40,79	24,00	35,00	1793,29	24,01	0,0008	916,90	0,0026	3,44

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 26) показывает, что C_{\max} в цельной крови после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 1,5 ч (t_{\max}) и составила 54,11 мкг/л.

L_z , включающий в себя последние 3–4 точки фармакокинетической кривой для цельной крови, составила 0,0048 1/ч. $T_{1/2}$ аскорбата лития после его введения *per os* составила 145,86 ч.

Низкое значение L_z и высокое значение $T_{1/2}$ указывает на поддержание стабильных концентраций иона лития в цельной крови.

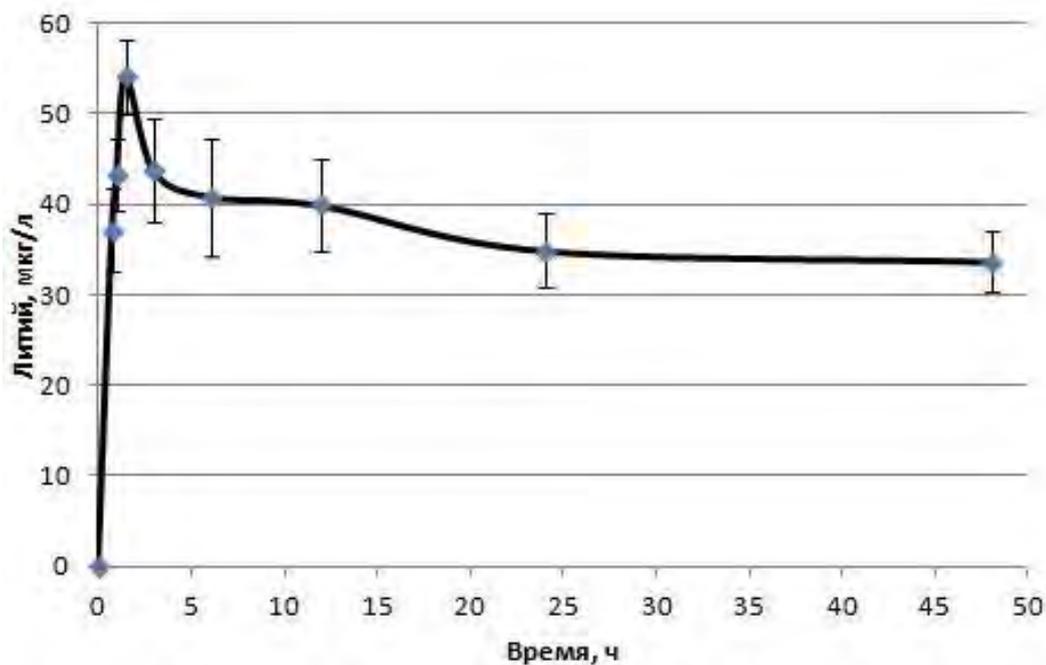


Рисунок 26 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в цельной крови

C_{\max} цитрата лития в головном мозге после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 1,5 ч (t_{\max}) и составила 41,77 мкг/л. Величина CL цитрата лития — 0,0044 л/(ч) после введения *per os* в дозе 1 мг/кг. Lz , включающий в себя последние 3–4 точки фармакокинетической кривой для цельной крови составил 0,0012 1/ч. $T_{1/2}$ цитрата лития после его введения *per os* — 602,62 ч (рис. 27).

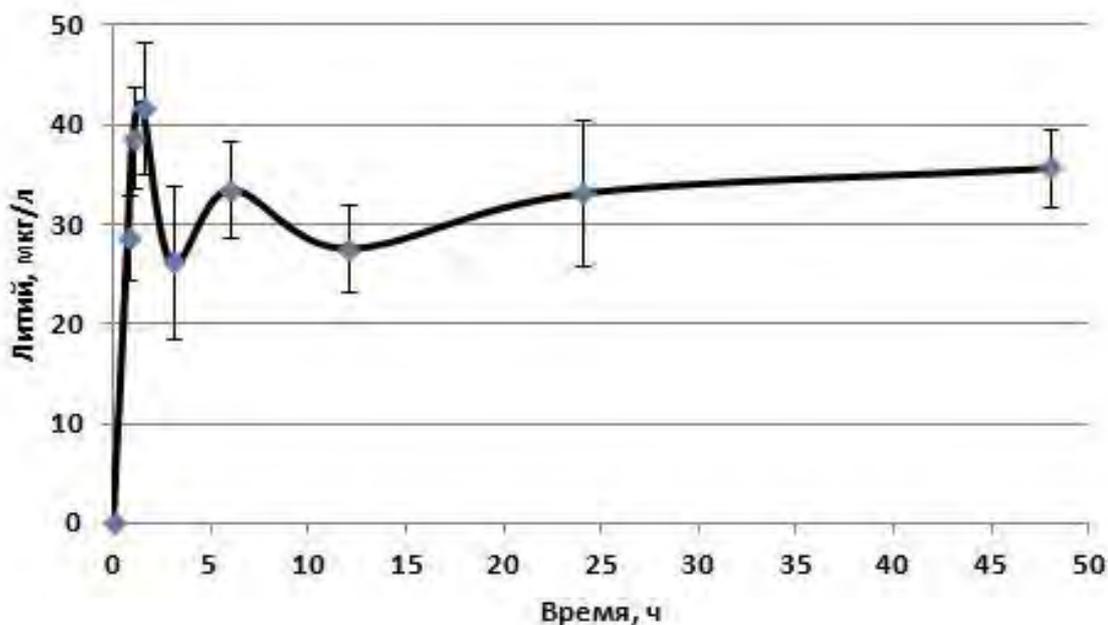


Рисунок 27 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате
ГОЛОВНОГО МОЗГА

Характерное низкое значение наклона участка финального выведения, высокое значение периода полувыведения и наиболее низкое значение клиренса именно для этого биосубстрата свидетельствует о накоплении иона лития в головном мозге животных.

При анализе фармакокинетической кривой (рис. 28) мы видим, что C_{max} цитрата лития в лобной доле головного мозга после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 6 ч (t_{max}) и составила 52,98 мкг/л.

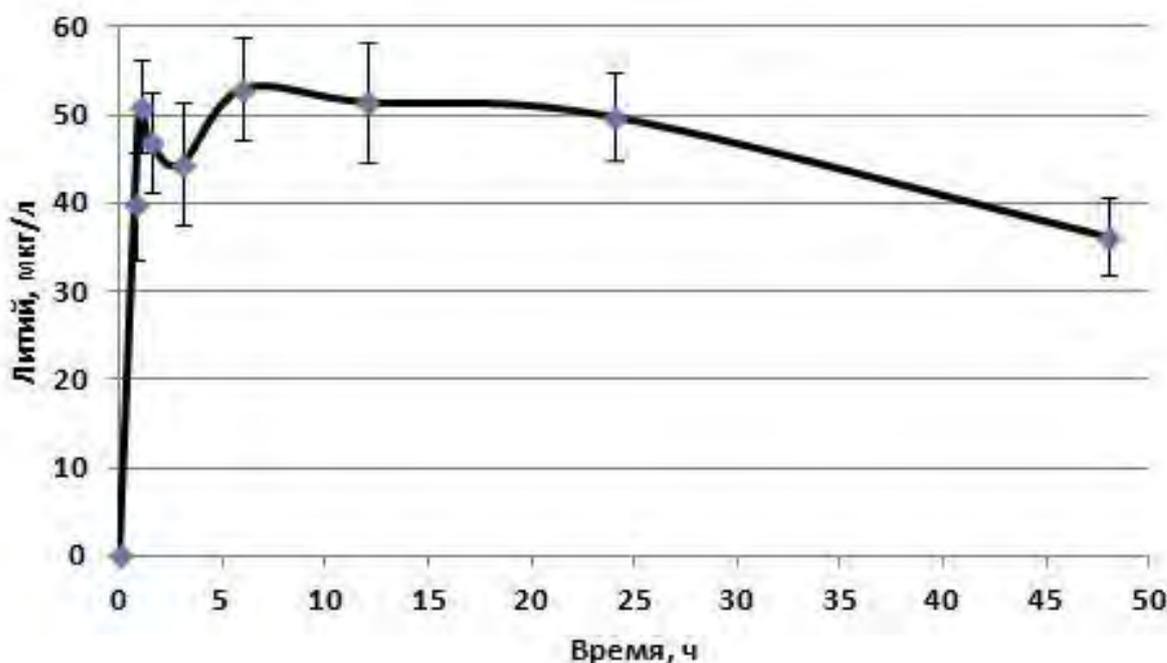


Рисунок 28 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате лобной доли головного мозга

C_{last} составила 36,23 мкг/л. MRT, характеризующее среднюю длительность пребывания в организме, после введения *per os* составило 22,32 ч. AUCt, характеризующая биодоступность, — 2230,21 мкг/л×ч.

Из результатов мы видим, что наиболее стабильно литий накапливается именно в лобной доле, $C_{last} = 36,23$ мкг/л — одна из самых высоких концентраций через 48 ч среди всех исследованных биосубстратов. Этот вывод подтверждает и значение площади под кривой: значение AUCt для лобной доли составило 2230 мкг/л×ч. MRT было достаточно высоким — 22,23 ч, выше, чем у других биосубстратов.

C_{\max} цитрата лития в сердце (рис. 29) после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 3,0 ч (t_{\max}) и составила 69,58 мкг/л.

C_{\max} лития в аорте (рис. 30) после его введения *per os* крысам в дозе 1 мг/кг достигнута через 24,0 ч (t_{\max}) и составила 38,92 мкг/л.

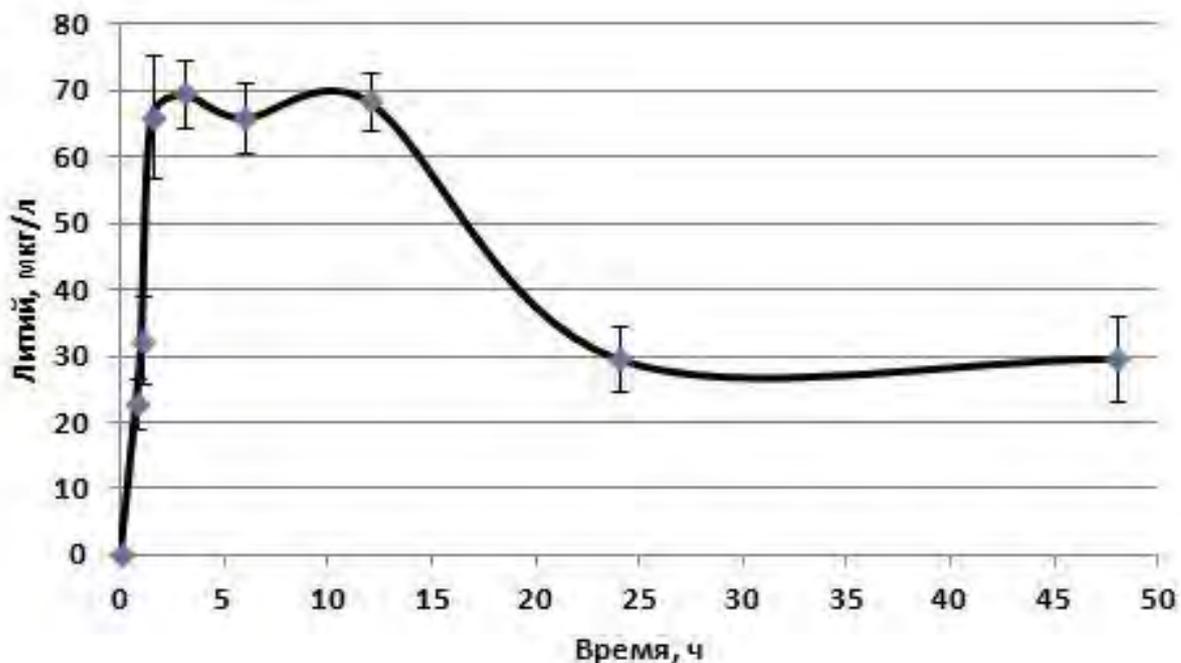


Рисунок 29 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате сердца

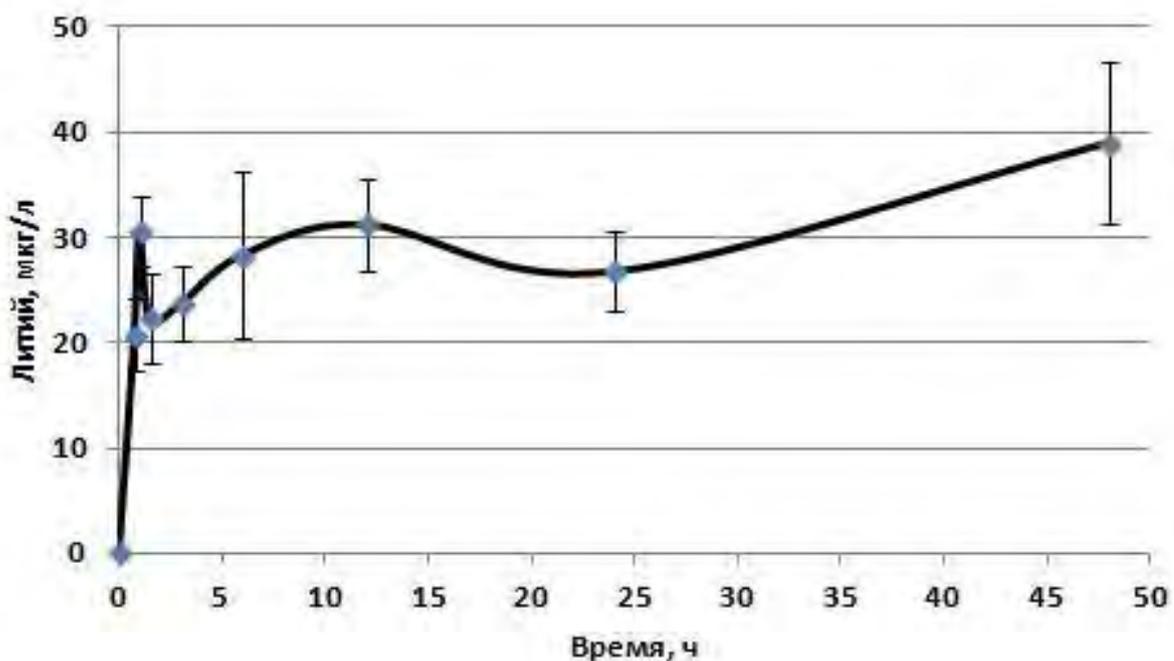


Рисунок 30 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате аорты

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 31) показал, что C_{\max} цитрата лития в легких после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 12,0 ч (t_{\max}) и составила 32,82 мкг/л.

Анализ фармакокинетической кривой (рис. 32) показал, что C_{\max} цитрата лития в печени после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 1,5 ч (t_{\max}) и составила 89,83 мкг/л.

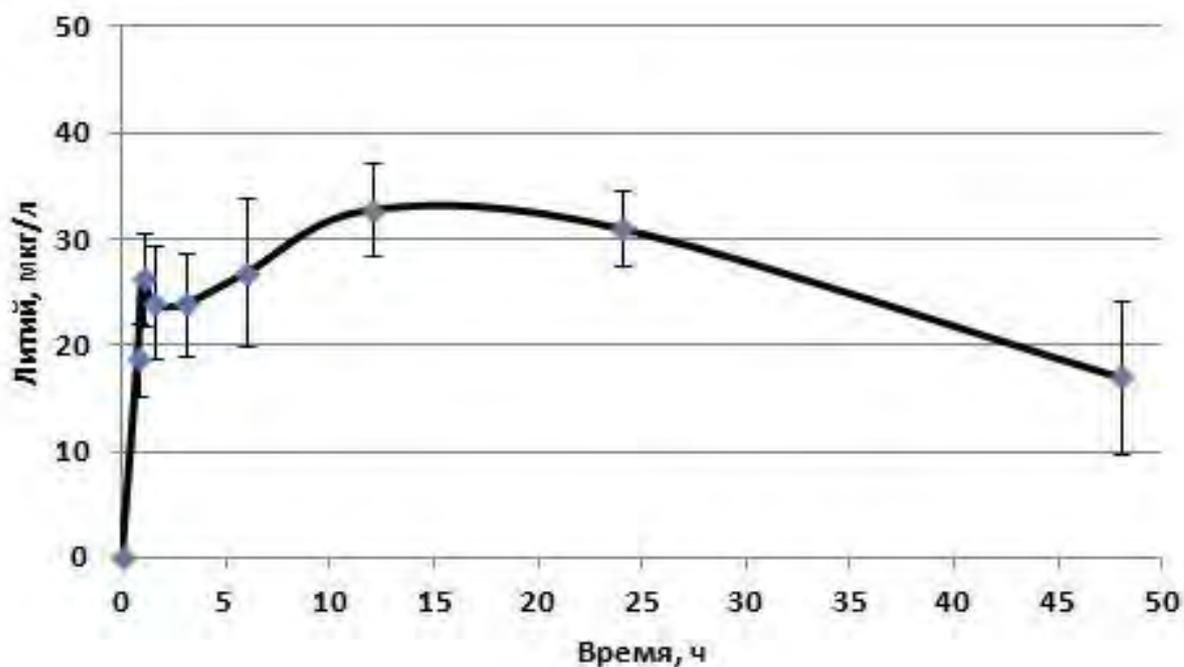


Рисунок 31 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате легких

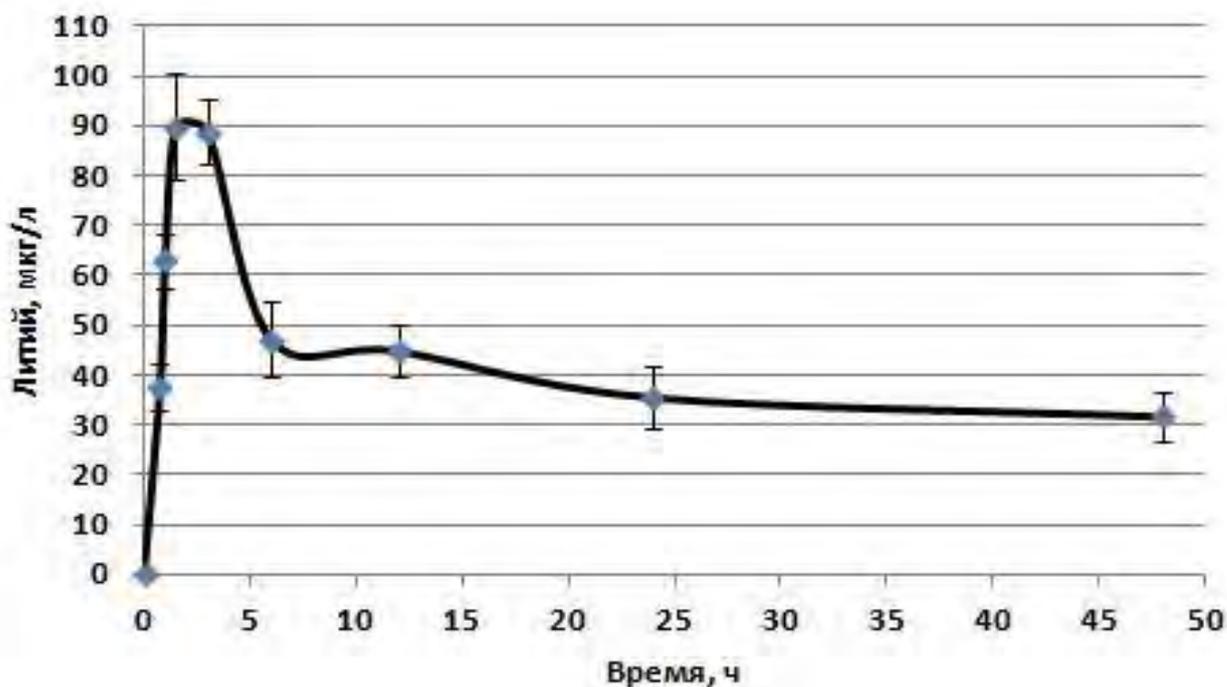


Рисунок 32 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате печени

C_{\max} цитрата лития в почках после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 1,0 ч (t_{\max}) и составила 47,71 мкг/л (рис. 33).

Визуальный анализ фармакокинетической кривой (рис. 34) показал, что C_{\max} цитрата лития в селезенке после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 12,0 ч. (t_{\max}) и составила 45,67 мкг/л.

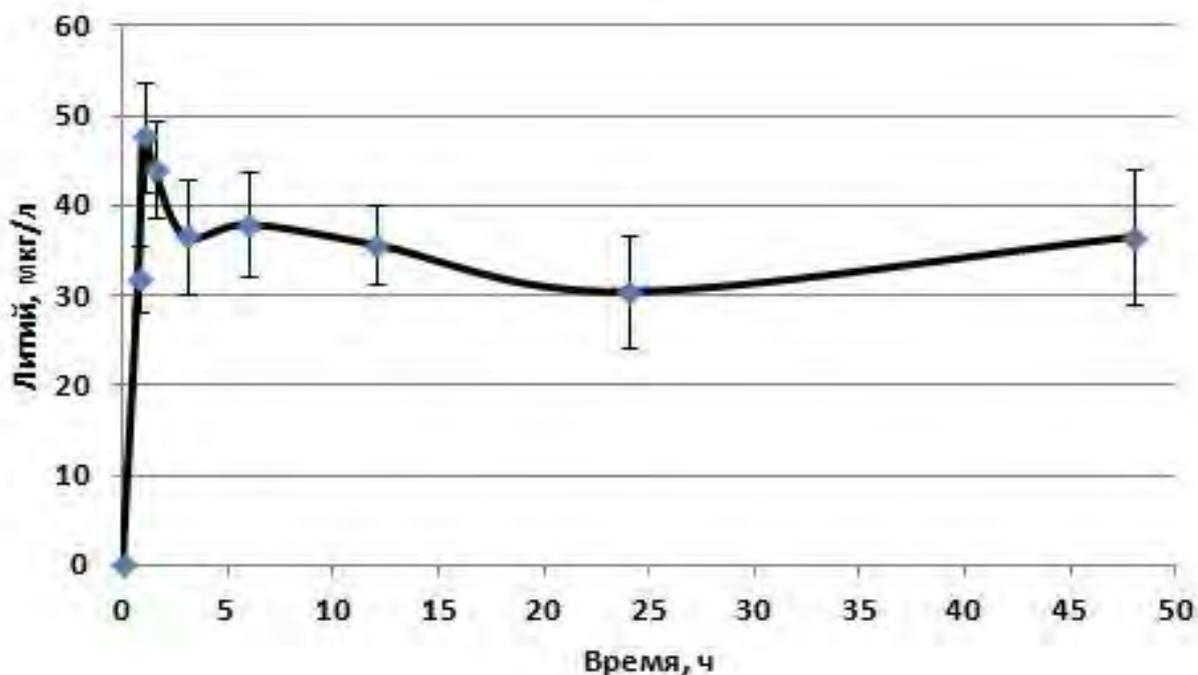


Рисунок 33 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате почек

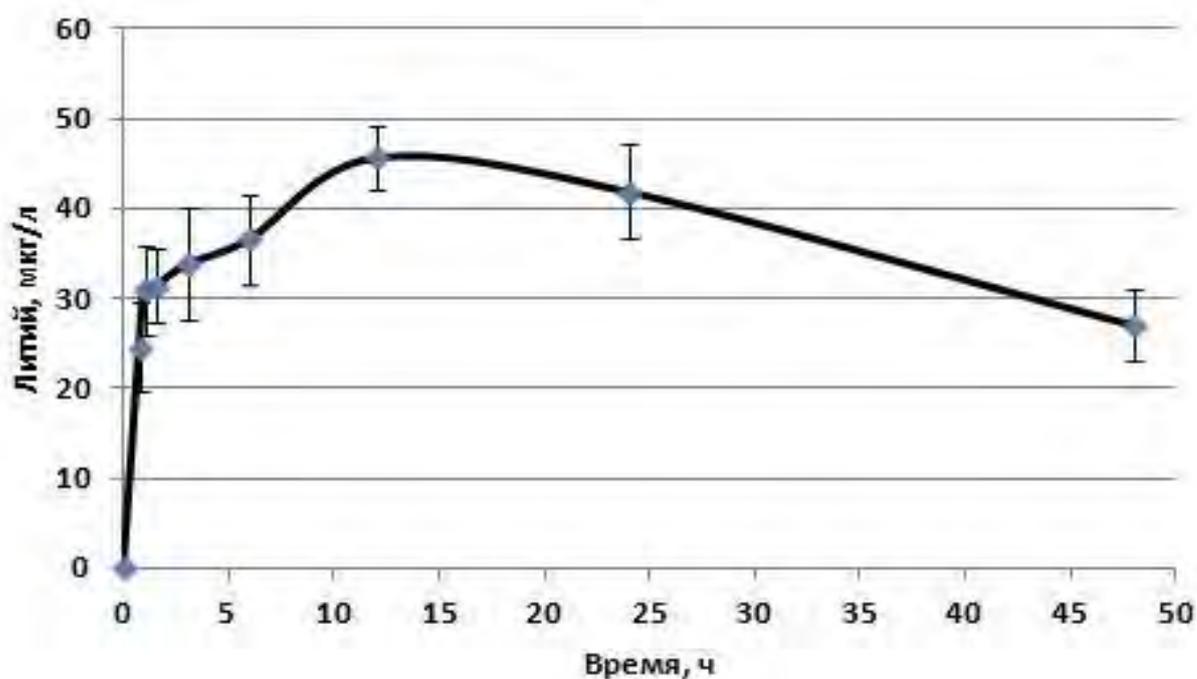


Рисунок 34 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате селезенки

C_{\max} цитрата лития в надпочечниках после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 12,0 ч (t_{\max}) и составила 56,66 мкг/л (рис. 35).

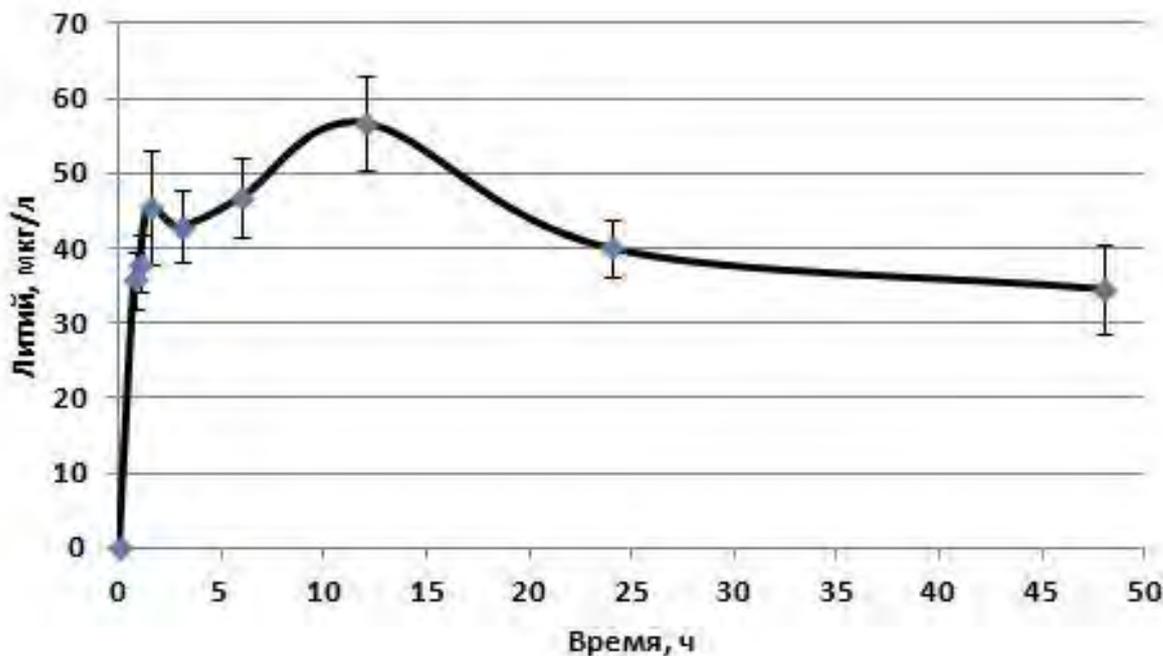


Рисунок 35 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате надпочечников

Визуальный анализ фармакокинетической кривой показал (рис. 36), что C_{\max} цитрата лития в бедренной кости после его введения *per os* в дозе 1 мг/кг достигнута через 24,0 ч (t_{\max}) и составила 40,79 мкг/л. CL цитрата лития составил 0,0026 л/(ч) после введения *per os* в дозе 1 мг/кг. Lz , включающий в себя последние 3–4 точки фармакокинетической кривой для цельной крови составила 0,0008 1/ч. $T_{1/2}$ цитрата лития после его введения *per os* — 916,90 ч.

Полученные в рамках бескамерного анализа фармакокинетические параметры цитрата лития позволяют сделать следующие выводы. T_{\max} составило от 1 до 1,5 ч для цельной крови, головного мозга, печени, почек. Для лобной доли головного мозга оно составило 6 ч. Для аорты, лёгких, селезёнки, надпочечников и бедренной кости — от 12 до 24 ч.

Для цельной крови было характерно низкое значение наклона участка финального выведения ($Lz = 0,005$ 1/ч) и высокое значение периода полувыведения ($T_{1/2} = 146$ ч), головного мозга ($Lz = 0,001$ 1/ч, $T_{1/2} = 602$ ч), почек ($Lz = 0,0006$ 1/ч,

$T_{1/2} = 1143$ ч) и бедренной кости ($Lz = 0,0008$ л/ч, $T_{1/2} = 918$ ч). Кроме этого, накопление лития в головном мозге и в кости подтверждается наиболее низким клиренсом именно для этих биосубстратов (для головного мозга он составил $0,004$ л/ч; для бедренной кости — $0,0026$ л/ч).

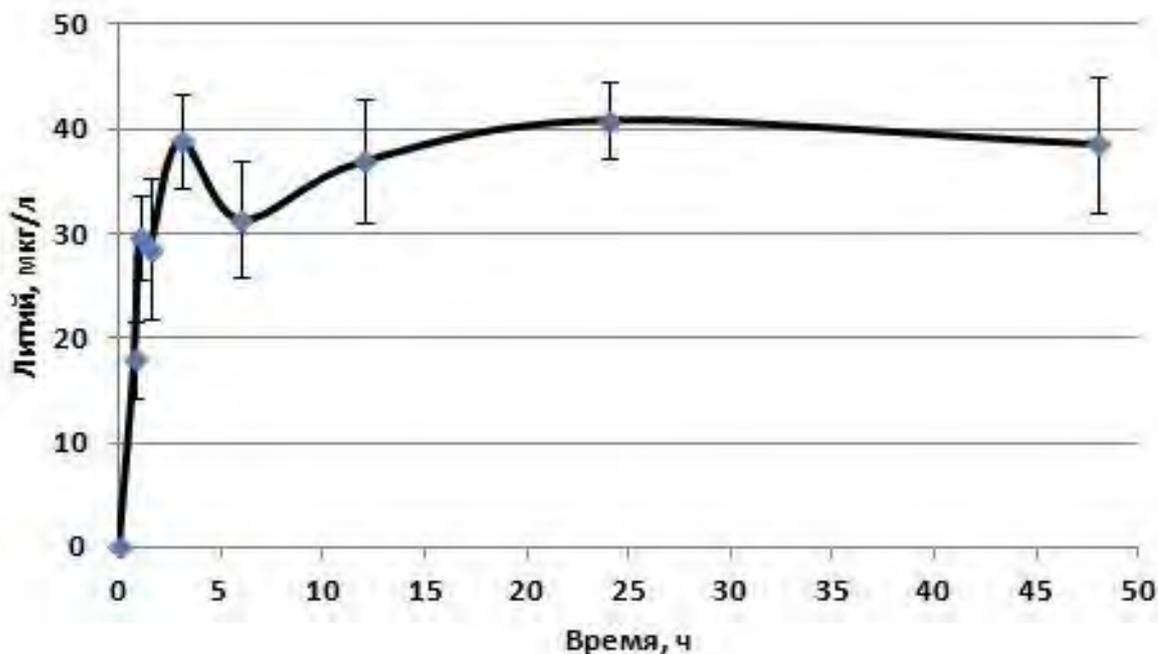


Рисунок 36 — Фармакокинетическая кривая содержания лития в гомогенате бедренной кости

Так же, как и аскорбат лития, цитрат лития способствует поддержанию стабильных концентраций иона лития в цельной крови и в головном мозге, что важно для осуществления профилактического и терапевтического потенциала лития.

3.1.3. Сравнительный анализ биораспределения лития при приёме органических солей

Проведено сравнение фармакокинетических данных для цитрата лития и аскорбата лития, полученных для бескамерной модели при введении в дозе 1 мг/л (табл. 7). Наиболее выраженные отличия фармакокинетических парамет-

ров бескамерной модели для двух солей лития касались фармакокинетических кривых для головного мозга, аорты, почек и бедренной кости.

Таблица 7 — Наиболее выраженные отличия фармакокинетических параметров цитрата лития и аскорбата лития для бескамерной модели при введении в дозе 1 мг/л

Биосубстрат	Головной мозг		Аорта		Почки		Бедренная кость	
	ЦЛ	АЛ	ЦЛ	АЛ	ЦЛ	АЛ	ЦЛ	АЛ
Lz, 1/ч	0,001	0,007	0,002	0,008	0,0006	0,004	0,0008	0,002
T _{1/2} , ч	602	96	356	89	1143	179	916	451
CL, л/ч	0,004	0,053	0,008	0,056	0,002	0,025	0,003	0,011
Vd, л	3,81	7,34	4,21	7,3	3,33	6,53	3,44	7,41

Примечание. ЦЛ — цитрат лития, АЛ — аскорбат лития.

Полученные оценки параметров бескамерной модели показали, что наклон участка финального выведения был в 2–7 раз ниже для цитрата лития, чем для аскорбата лития, а время полувыведения лития из головного мозга, аорты, почек и бедренной кости — в 2–6 раз выше. Клиренс лития был в 3–10 раз ниже для цитрата лития, а объём распределения, наоборот, — в 1,5–2,5 раза выше (см. табл. 3). Все эти отличия указывают на большее «средство» лития, поступающего в составе цитрата лития, к тканям головного мозга, аорты, почек и бедренной кости.

Заметим, что аскорбат лития наиболее активно накапливался в надпочечниках, аорте, бедренной кости и в головном мозге. Накопление цитрата лития происходило в почках и, опять же, в аорте, бедренной кости и головном мозге. Данный результат вполне отвечает физиологии аскорбат- и цитрат-аниона. Так, аскорбат-анион, действительно, накапливается преимущественно в надпочечниках, где поддерживает секрецию катехоламинов. Цитрат-анион выполняет в почках важнейшую функцию — препятствует преципитации (выпадению) кристаллов низкорастворимых солей кальция, тем самым профилактируя образование почечных камней.

3.2. Влияние солей лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка

3.2.1. Влияния солей лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без воздействия глутамата

Влияние карбоната лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в культуре

В результате эксперимента было установлено, что добавление карбоната лития во всем диапазоне концентраций (0,1; 0,2; 0,5 ммоль/л и 1,0 ммоль/л) не изменяло выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка, добавляемого к нейронам без использования глутаматной модели стресса ($p > 0,05$). Это позволило сделать вывод об отсутствии у данной соли лития угнетающего или стимулирующего эффекта на нейроны в культуре (рис. 37).

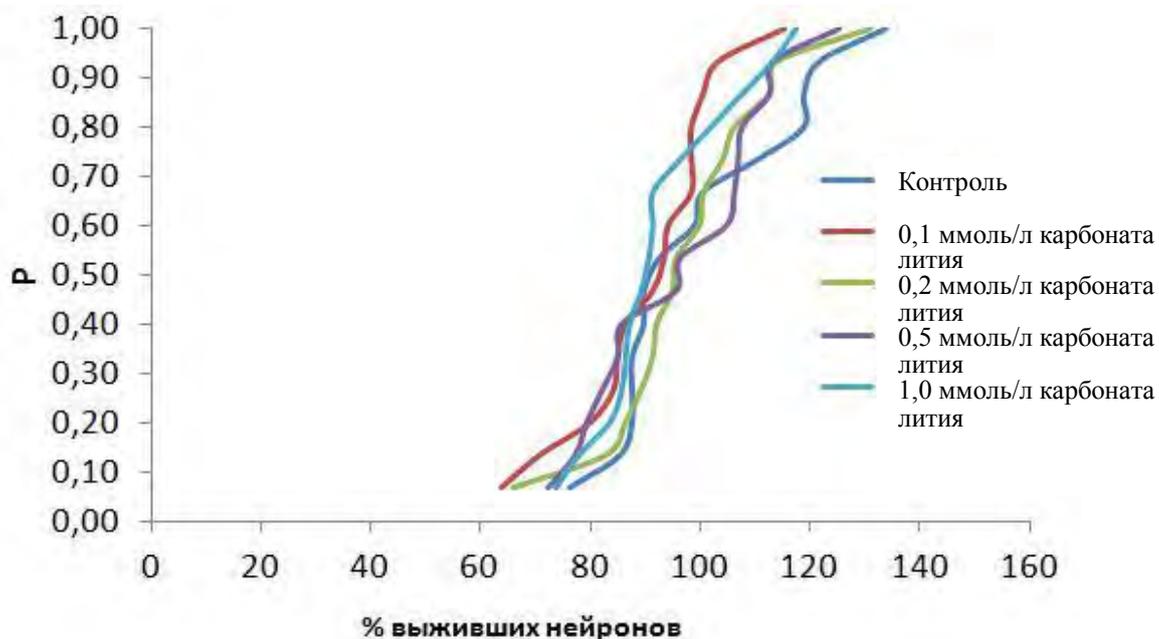


Рисунок 37 — Выживаемость культур нейронов при добавлении различных концентраций карбоната лития в соответствии с анализом эмпирических функций распределения методом Колмогорова — Смирнова

Приведены значения, характеризующие действие карбоната лития на культивируемые зернистые нейроны мозжечка без воздействия глутамата (табл. 8). Медиана выживаемости в контроле составила 98,14 ($q_{25\%} = 89,82$, $q_{75\%} = 110,4$), в культуре с добавлением карбоната лития в концентрации 0,1 ммоль/л — 93,35 ($q_{25\%} = 84,51$, $q_{75\%} = 99,36$, $p > 0,1$), при добавлении карбоната лития в концентрации 0,2 ммоль/л — 95,47 ($q_{25\%} = 90,17$, $q_{75\%} = 109,3$, $p > 0,5$), при добавлении карбоната лития в концентрации 0,5 ммоль/л — 99,67 ($q_{25\%} = 96,18$, $q_{75\%} = 110$, $p > 0,4$), при добавлении карбоната лития в концентрации 1,0 ммоль/л — 90,52 ($q_{25\%} = 85,93$, $q_{75\%} = 104,7$, $p > 0,05$).

Таблица 8 — Основные статистические показатели при воздействии карбоната лития на культивируемые зернистые нейроны мозжечка

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	76,38	63,65	65,77	72,14	73,55
1-й квартиль, 25 %	89,82	84,51	90,17	83,45	85,93
Медиана	98,14	93,35	95,47	96,18	90,52
3-й квартиль, 75 %	110,4	99,36	109,3	110	104,7
Максимальное значение	133,7	115,3	130,8	125,2	117,4
Среднеквадратическое отклонение	12,89	13,07	15,2	15,75	12,43
Стандартная ошибка	2,353	3,375	3,924	4,067	3,21
Нижняя граница ДИ	95,19	83,57	89,23	87,83	85,9
Верхняя граница ДИ	104,8	98,04	106,1	105,3	99,67

Примечание. Отличий между группами не выявлено ($p > 0,05$) в соответствии с t-критерием.

Ниже показаны примеры фотографий фиксированных культур нейронов, наблюдаемых при добавлении в культуру различных концентраций карбоната лития (рис. 38).

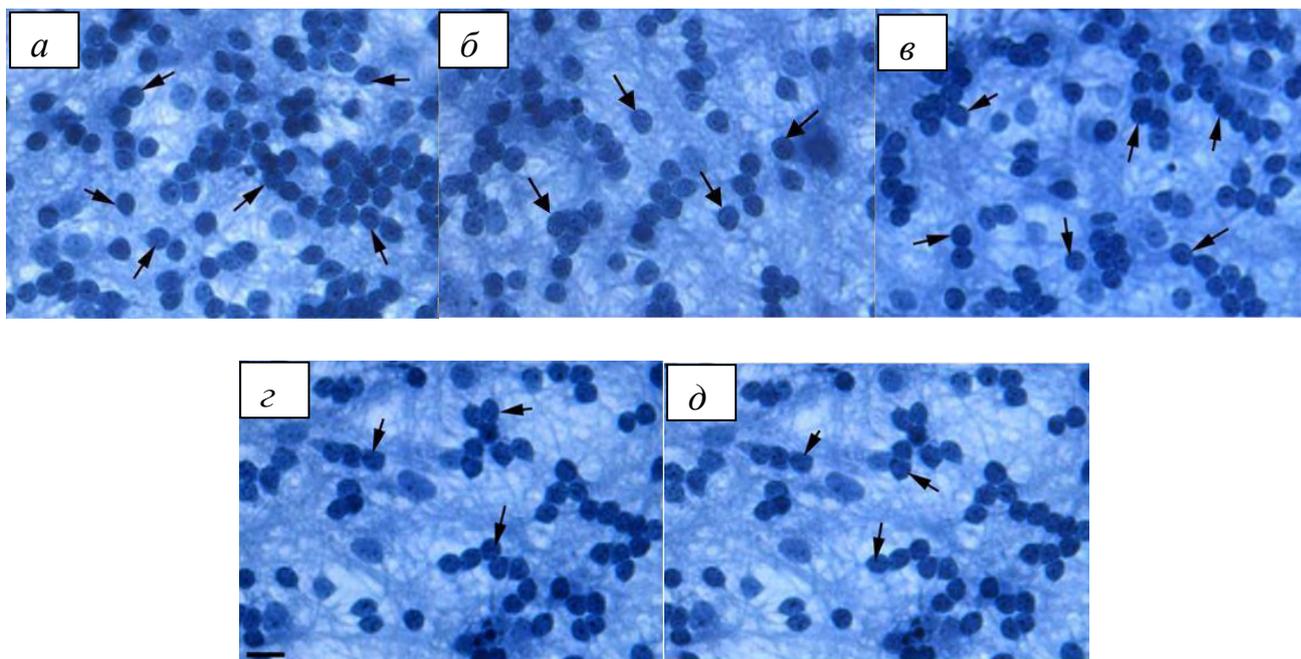


Рисунок 38 — Культивированные зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле (*a*) и после культивации с карбонатом лития в течение 5 суток в концентрации 0,1 ммоль/л (*б*), 0,2 ммоль/л (*в*), 0,5 ммоль/л (*г*), 1,0 ммоль/л (*д*). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны.

Масштабный отрезок 15 мкм

В исследованном диапазоне концентраций (0,1; 0,2; 0,5 и 1 ммоль/л) карбонат лития не обладает токсическим эффектом, не влияя на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без воздействия глутамата.

Влияние хлорида лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в культуре

Добавление хлорида лития во всем диапазоне концентраций (0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 ммоль/л) не изменяло выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка, добавляемого к нейронам без использования глутаматной модели стресса ($p > 0,05$) (рис. 39).

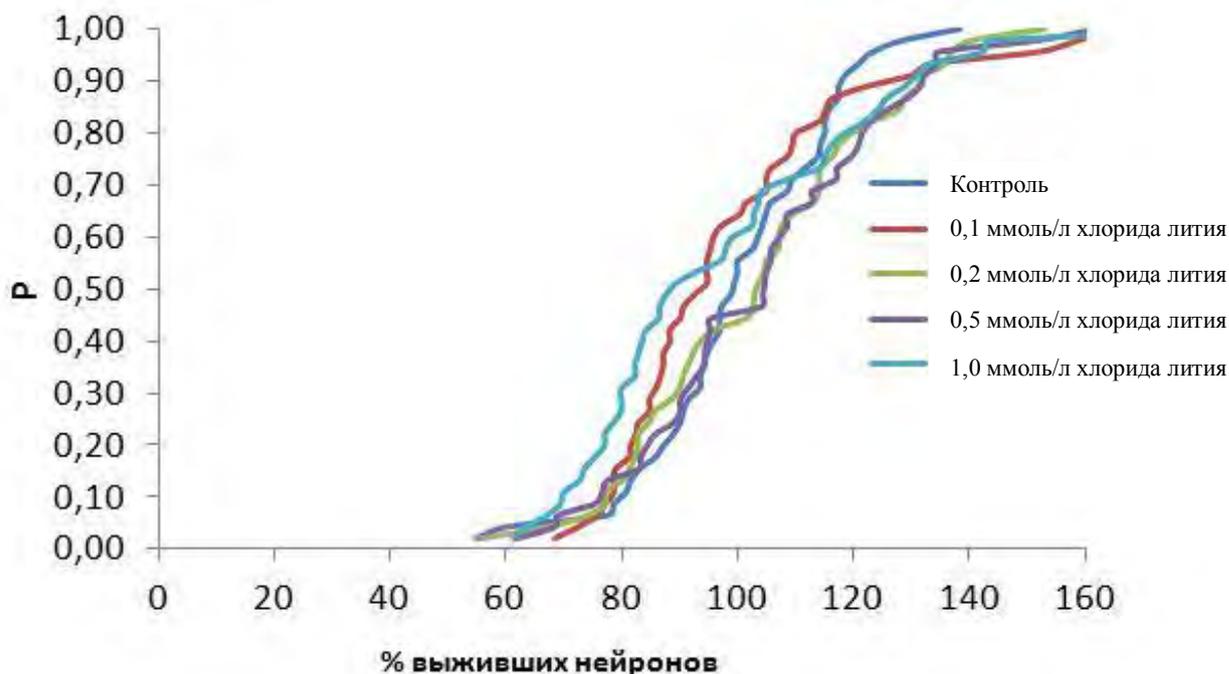


Рисунок 39 — Выживаемость культур нейронов при различных концентрациях хлорида лития и в контроле. Эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов при различных концентрациях хлорида лития без добавления глутамата

Значения, характеризующие действие хлорида лития на культивируемые зернистые нейроны мозжечка без воздействия глутамата, приведены в табл. 9. На фоне добавления различных концентраций хлорида лития в исследуемых культурах значимых изменений нами выявлено не было ($p > 0,05$). Так, медиана выживаемости в контроле составила 99,36 ($q_{25\%} = 90,3$, $q_{75\%} = 114,1$), в культуре с добавлением хлорида лития в концентрации 0,1 ммоль/л — 94,61 ($q_{25\%} = 83,8$, $q_{75\%} = 109$, $p = 0,77$), при добавлении хлорида лития в концентрации 0,2 ммоль/л — 103,4 ($q_{25\%} = 85,23$, $q_{75\%} = 116,9$, $p = 0,43$), при добавлении хлорида лития в концентрации 0,5 ммоль/л — 104,6 ($q_{25\%} = 89,48$, $q_{75\%} = 120,3$, $p > 0,05$), при добавлении хлорида лития в концентрации 1,0 ммоль/л — 89,42 ($q_{25\%} = 79,33$, $q_{75\%} = 115,7$, $p = 0,51$).

Приведены примеры фотографий фиксированных культур нейронов, наблюдаемых при добавлении в культуру различных концентраций различных концентраций хлорида лития (рис. 40).

Таблица 9 — Основные статистические показатели выживаемости при воздействии хлорида лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	54,71	68,38	55,71	61,95	61,43
1-й квартиль, 25 %	90,3	83,8	85,23	89,48	79,33
Медиана	99,36	94,61	103,4	104,6	89,42
3-й квартиль, 75 %	114,1	109	116,9	120,3	115,7
Максимальное значение	138,6	164,3	152,9	161,9	192,9
Среднеквадратическое отклонение	16,73	21,87	21,36	22,02	26,33
Стандартная ошибка	2,494	3,261	3,184	3,282	3,925
Нижняя граница ДИ	94,97	92,22	96,72	97,63	90,1
Верхняя граница ДИ	105	105,4	109,6	110,9	105,9

Примечание. Отличий между группами не выявлено ($p > 0,05$) в соответствии с t-критерием.

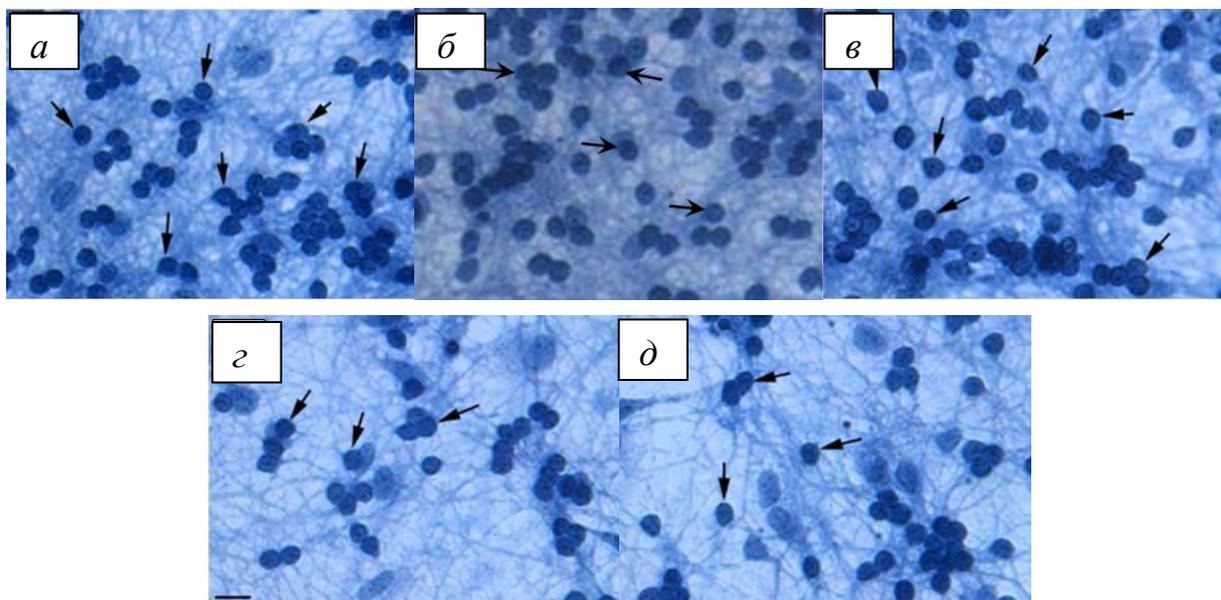


Рисунок 40 — Зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле (а) и после культивации с хлоридом лития в течение 5 суток в концентрации 0,1 ммоль/л (б), 0,2 ммоль/л (в), 0,5 ммоль/л (г), 1,0 ммоль/л (д). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны.

Масштабный отрезок 15 мкм

В исследованном диапазоне концентраций (0,1; 0,2; 0,5 и 1 ммоль/л) хлорид лития не обладает токсическим действием, не влияя на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без воздействия глутамата.

Влияние аскорбата лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в культуре

Анализ эмпирических функций распределения средних чисел выживших клеток с помощью теста Колмогорова — Смирнова показал, что достоверных различий между распределениями чисел клеток при различных концентрациях аскорбата лития, добавляемого к нейронам без использования глутаматной модели стресса, не установлено (рис. 41). Таким образом, в исследованном диапазоне концентраций аскорбат лития не был токсичен в диапазоне концентраций от 0,1 до 1,0 ммоль/л для культивированных зернистых нейронов мозжечка.

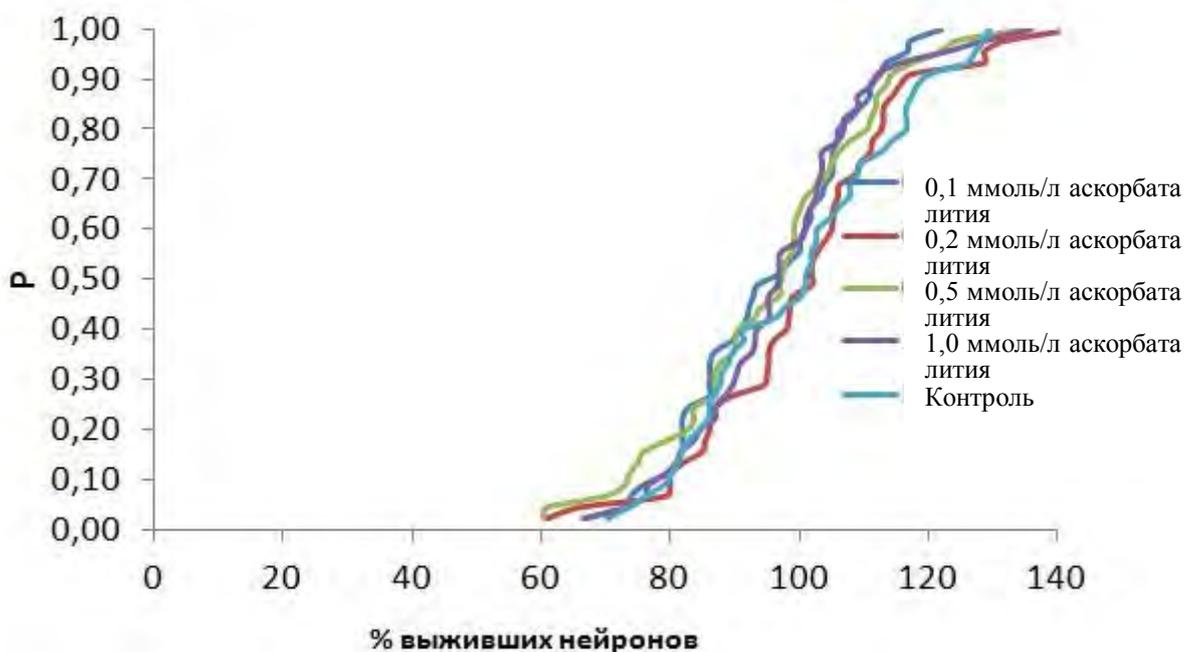


Рисунок 41 — Эмпирические функции распределения чисел выживших нейронов при действии различных концентрациях аскорбата лития без добавления глутамата

Приведены значения, характеризующие действие аскорбата лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка без воздействия глутамата (табл. 10). На фоне добавления различных концентраций аскорбата лития в исследуемых культурах значимых изменений нами выявлено не было ($p > 0,05$). Так, медиана выживаемости в контроле составила 101,4 ($q_{25\%} = 88,75$, $q_{75\%} = 108,5$), в культуре с добавлением аскорбата лития в концентрации 0,1 ммоль/л — 96,93 ($q_{25\%} = 84,58$, $q_{75\%} = 105,6$, $p > 0,16$), при добавлении аскорбата лития в концентрации 0,2 ммоль/л — 101,9 ($q_{25\%} = 88,24$, $q_{75\%} = 111,2$, $p > 0,81$), при добавлении аскорбата лития в концентрации 0,5 ммоль/л — 97,5 ($q_{25\%} = 85,34$, $q_{75\%} = 107$, $p = 0,21$), при добавлении аскорбата лития в концентрации 1,0 ммоль/л — 92,99 ($q_{25\%} = 76,43$, $q_{75\%} = 102,9$, $p > 0,37$).

Таблица 10 — Основные статистические показатели выживаемости при воздействии хлорида лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	70,42	67	61	60,48	31
1-й квартиль, 25 %	88,55	84,58	88,24	85,34	76,43
Медиана	101,4	96,93	101,9	97,5	92,99
3-й квартиль, 75 %	108,5	105,6	111,2	107	102,9
Максимальное значение	129,2	122	142,4	134,6	135,8
Среднеквадратическое отклонение	14,35	13,42	16,32	16,34	23,69
Стандартная ошибка	1,852	2	2,433	2,435	3,058
Нижняя граница ДИ	96,35	91,58	95,89	90,88	81,03
Верхняя граница ДИ	103,8	99,65	105,7	100,7	93,26

Примечание. Отличий между группами не выявлено ($p > 0,05$) в соответствии с t-критерием.

Вышеуказанные результаты иллюстрируются отдельными примерами фиксированных культур нейронов в контроле и после культивации с аскорбатом лития без воздействия глутамата (рис. 42).

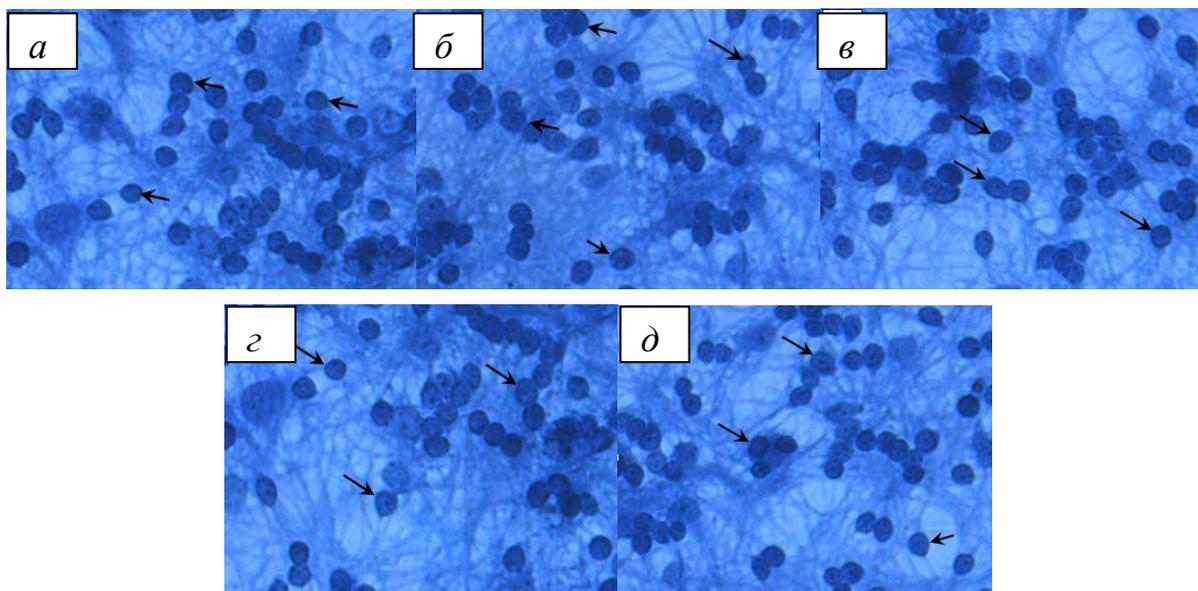


Рисунок 42 — Зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле (*a*) и после культивации с аскорбатом лития в течение 5 суток в концентрации 0,1 ммоль/л (*б*), 0,2 ммоль/л (*в*), 0,5 ммоль/л (*г*), 1,0 ммоль/л (*д*). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны.

Масштабный отрезок 15 мкм

В исследованном диапазоне концентраций (0,1; 0,2; 0,5 и 1 ммоль/л) аскорбат лития не обладает токсическим действием, не влияя на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без воздействия глутамата.

Влияние цитрата лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка

Проведение анализа эмпирических функций распределения средних чисел выживших клеток посредством теста Колмогорова — Смирнова показал, что достоверных различий между распределениями чисел клеток при различных

концентрациях цитрата лития, добавляемого к нейронам без использования глутаматной модели стресса, не установлено (рис. 43). Эксперименты на культивированных зернистых нейронах мозжечка показали, что в семисуточных культурах в отсутствии глутамата при действии цитратом лития выживаемость нейронов не изменяется по сравнению с контролем.

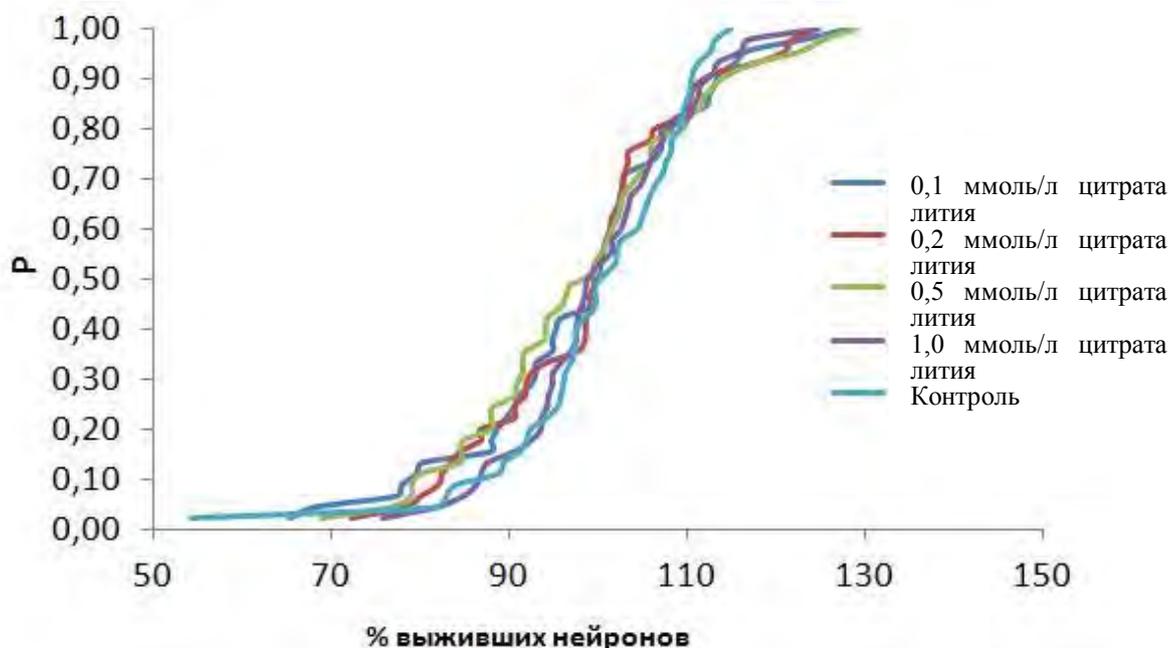


Рисунок 43 — Обобщение проведенных экспериментов: эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов при различных концентрациях цитрата лития

Приведены значения, характеризующие действие цитрата лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка без воздействия глутамата (табл. 11). На фоне добавления различных концентраций цитрата лития в исследуемых культурах значимых изменений нами выявлено не было ($p > 0,05$). Так, медиана выживаемости в контроле составила 100,9 ($q_{25\%} = 95,68$, $q_{75\%} = 108,3$), в культуре с добавлением цитрата лития в концентрации 0,1 ммоль/л — 100,1 ($q_{25\%} = 90,84$, $q_{75\%} = 107,2$, $p > 0,1$), при добавлении цитрата лития в концентрации 0,2 ммоль/л — 99,67 ($q_{25\%} = 91,23$, $q_{75\%} = 104,7$, $p > 0,5$), при добавлении цитрата лития в концентрации 0,5 ммоль/л — 99,67 ($q_{25\%} = 89,4$, $q_{75\%} = 106,1$; $p > 0,1$), при добавлении цитрата лития в концентрации 1,0 ммоль/л — 99,19 ($q_{25\%} = 94,35$, $q_{75\%} = 106,9$, $p > 0,5$). Описанные выше результаты иллю-

стрируются отдельными примерами фиксированных культур нейронов в контроле и после культивации с цитратом лития без воздействия глутамата (рис. 44).

Таблица 11 — Основные статистические показатели выживаемости при воздействии цитрата лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	54,36	65,33	72,31	68,95	75,82
1-й квартиль, 25 %	95,68	90,84	91,23	89,4	94,35
Медиана	100,9	100,1	99,67	99,67	99,19
3-й квартиль, 75 %	108,3	107,2	104,7	106,1	106,9
Максимальное значение	114,9	128,3	124,7	128,9	124,7
Среднеквадратическое отклонение	10,88	13,22	11,72	13,22	9,897
Стандартная ошибка	1,621	1,97	1,747	1,971	1,475
Нижняя граница ДИ	96,74	94,48	95,47	94,55	97,33
Верхняя граница ДИ	103,3	102,4	102,5	102,5	103,3

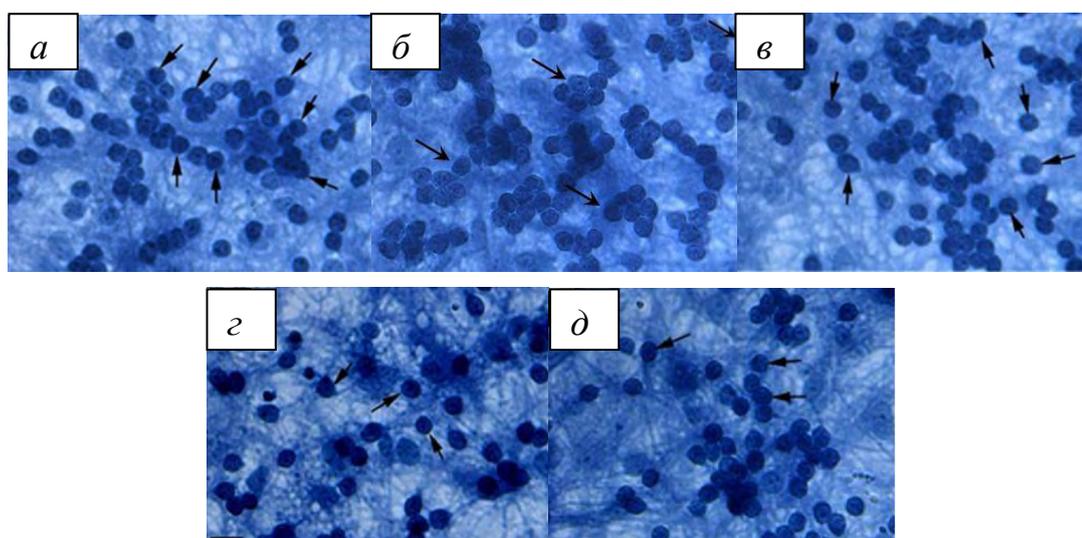


Рисунок 44 — Зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле (а) и после культивации с цитратом лития в течение 5 суток в концентрации 0,1 ммоль/л (б), 0,2 ммоль/л (в), 0,5 ммоль/л (г), 1,0 ммоль/л (д). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны. Масштабный отрезок 15 мкм

В исследованном диапазоне концентраций (0,1; 0,2; 0,5 и 1 ммоль/л) цитрат лития не обладает токсическим действием, не влияя на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без воздействия глутамата.

Влияние цитрата натрия на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в культуре

В соответствии с анализом эмпирических функций распределения методом Колмогорова — Смирнова, добавление цитрата натрия в концентрациях 0,5 и 1,0 ммоль/л достоверно снижало выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка, добавляемого к нейронам без использования глутаматной модели стресса ($p < 0,05$), другие концентрации — 0,1 и 0,2 ммоль/л — не приводили к достоверным отличиям выживаемости (рис. 45).

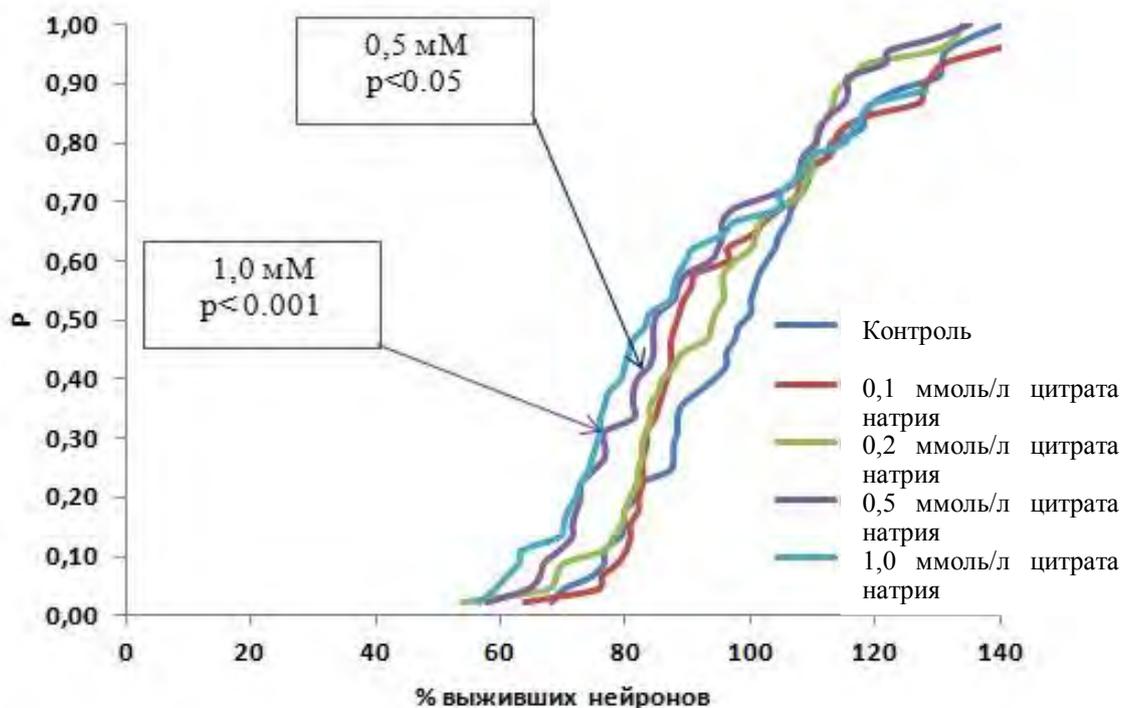


Рисунок 45 — Обобщение проведенных экспериментов: эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов при различных концентрациях цитрата натрия

Приведены значения, характеризующие действие цитрата натрия на культивированные зернистые нейроны мозжечка без воздействия глутамата (табл. 12). На фоне добавления различных концентраций цитрата натрия в исследуемых культурах нами было выявлено достоверное изменение выживаемости КЗН в концентрациях 0,5 и 1,0 мМ ($p < 0,05$). Так, при добавлении цитрата натрия в концентрации 0,5 ммоль/л медиана составила 85,18 ($q_{25\%} = 75,75$, $q_{75\%} = 108,3$; $p < 0,05$), при добавлении цитрата натрия в концентрации 1,0 ммоль/л — 80,95 ($q_{25\%} = 73,47$, $q_{75\%} = 101,1$, $p < 0,001$).

Таблица 12 — Основные статистические показатели выживаемости при воздействии цитрата натрия на культивированные зернистые нейроны мозжечка

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	68,27	63,72	53,97	57,87	56,57
1-й квартиль, 25 %	87,45	82,57	82,25	75,75	73,47
Медиана	100,1	88,43	94,28	85,18*	80,95*
3-й квартиль, 75 %	111,2	110,5	109,9	108,3	101,1
Максимальное значение	140,4	146,3	133,9	135,2	128,1
Среднеквадратическое отклонение	18,14	20,16	17,78	19,23	18,52
Стандартная ошибка	2,705	3,005	2,651	2,866	2,928
Нижняя граница ДИ	94,52	91,46	89,82	85,32	80,24
Верхняя граница ДИ	105,4	103,6	100,5	96,88	92,09

* Отличия выявлены при добавлении цитрата натрия в концентрациях 0,5 и 1,0 ммоль/л ($p < 0,05$) в соответствии с t-критерием.

Вышеуказанные результаты иллюстрируются отдельными примерами фиксированных культур нейронов в контроле и после культивации в течение 5 суток с цитратом натрия без воздействия глутамата. Прослежено снижение количества КЗН мозжечка при добавлении цитрата натрия в концентрациях 0,5 и 1,0 мМ (рис. 46, з, д).

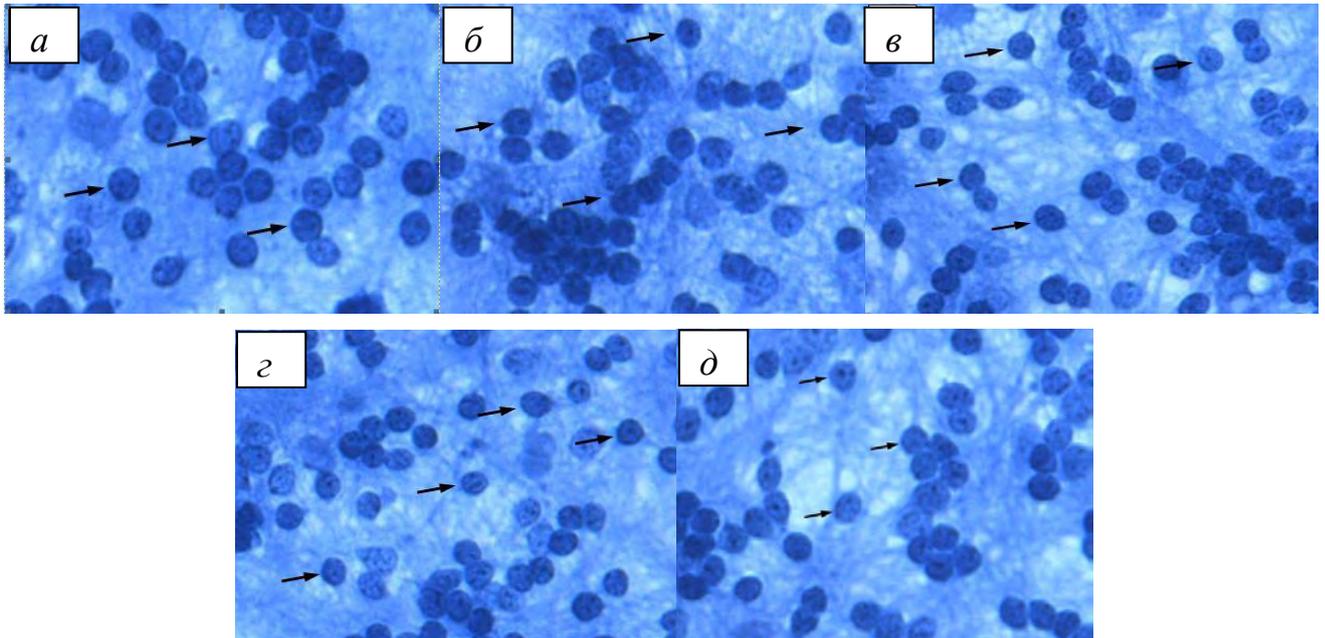


Рисунок 46 — Зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле (*a*) и после культивации с цитратом натрия в течение 5 суток в концентрации 0,1 ммоль/л (*б*), 0,2 ммоль/л (*в*), 0,5 ммоль/л (*г*), 1,0 ммоль/л (*д*). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны.

Масштабный отрезок 15 мкм

В указанном диапазоне концентраций (0,5 и 1 ммоль/л) цитрат натрия достоверно снижает выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в отсутствии глутамата ($p < 0,05$).

Влияние аскорбата натрия на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в культуре

В соответствии с анализом эмпирических функций распределения методом Колмогорова — Смирнова добавление аскорбата натрия не снижало выживаемость КЗН мозжечка без использования глутаматной модели стресса (рис. 47).

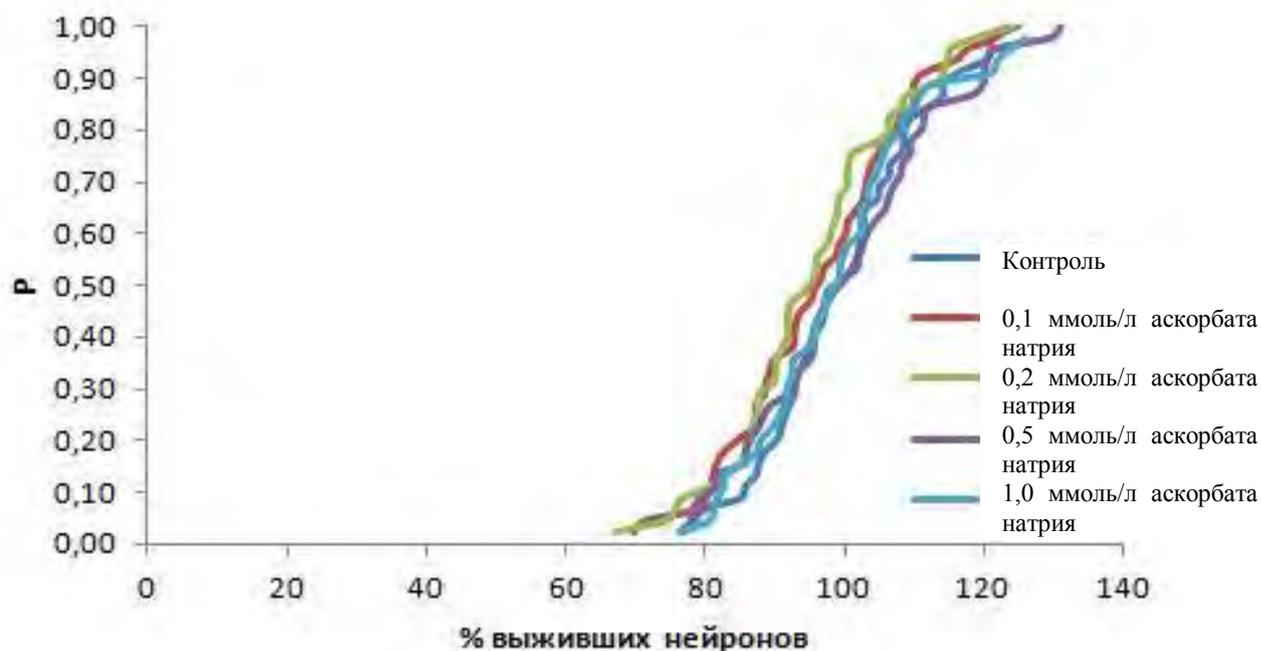


Рисунок 47 — Обобщение проведенных экспериментов: эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов при различных концентрациях аскорбата натрия

Приведены значения, характеризующие действие аскорбата натрия на культивированные зернистые нейроны мозжечка без воздействия глутамата (табл. 13). На фоне добавления различных концентраций аскорбата натрия в исследуемых культурах значимых изменений нами выявлено не было ($p > 0,05$). Так, медиана выживаемости в контроле составила 99,64 ($q_{25\%} = 91,65$, $q_{75\%} = 108,2$), в культуре с добавлением аскорбата натрия в концентрации 0,1 ммоль/л — 96,57 ($q_{25\%} = 87,31$, $q_{75\%} = 105,2$; $p > 0,1$), при добавлении аскорбата натрия в концентрации 0,2 ммоль/л — 95,53 ($q_{25\%} = 87,53$, $q_{75\%} = 103,1$; $p > 0,05$), при добавлении аскорбата лития в концентрации 0,5 ммоль/л — 100,2 ($q_{25\%} = 88,85$, $q_{75\%} = 109,6$; $p > 0,89$), при добавлении аскорбата лития в концентрации 1,0 ммоль/л — 98,37 ($q_{25\%} = 90,73$, $q_{75\%} = 105,2$; $p > 0,5$).

Вышеуказанные результаты иллюстрируется отдельными примерами фиксированных культур нейронов в контроле и после культивации в течение пяти суток с цитратом натрия без воздействия глутамата (рис. 48).

Таблица 13 — Основные статистические показатели при воздействии аскорбата натрия на культивированные зернистые нейроны мозжечка

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	76,53	69,79	67,23	76,60	76,32
1-й квартиль, 25 %	91,65	87,31	87,53	88,85	90,73
Медиана	99,64	96,57	95,53	100,20	98,37
3-й квартиль, 75 %	108,20	105,20	103,10	109,60	105,20
Максимальное значение	124,80	123,40	124,30	131,10	126,00
Среднеквадратическое отклонение	11,68	12,68	12,30	14,00	11,89
Стандартная ошибка	1,74	1,89	1,834	2,09	1,79
Нижняя граница ДИ	96,49	92,71	92,06	96,16	94,89
Верхняя граница ДИ	103,5	100,3	99,46	104,60	102,10

Примечание. Отличий между группами не выявлено ($p > 0,05$) в соответствии с t-критерием.

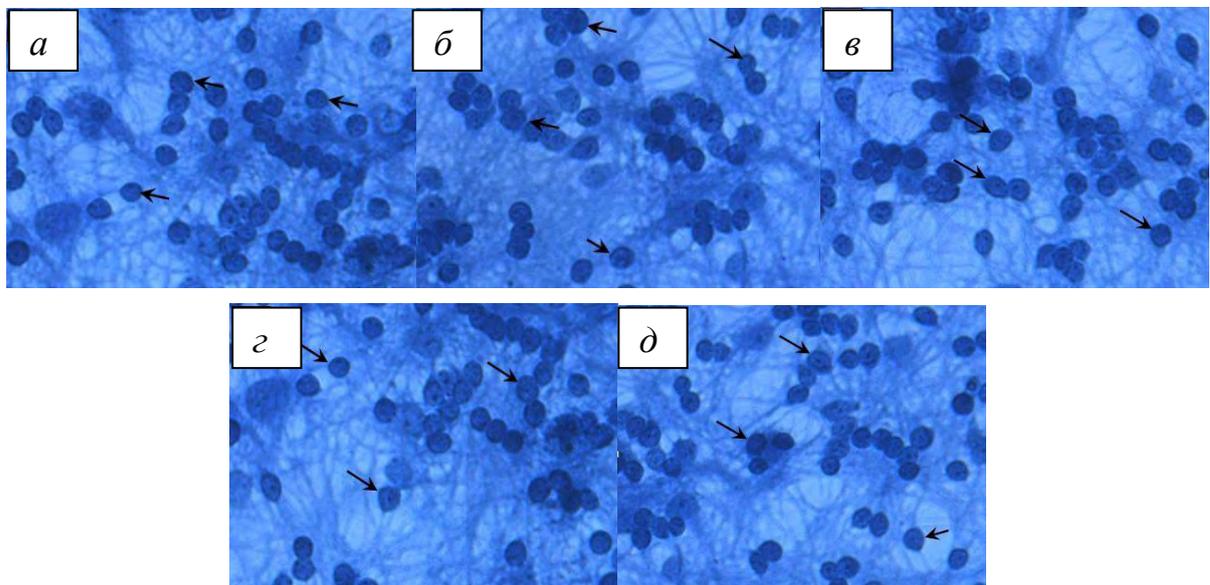


Рисунок 48 — Зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле (а) и после культивации с аскорбатом натрия в течение 5 суток в концентрации 0,1 ммоль/л (б), 0,2 ммоль/л (в), 0,5 ммоль/л (г), 1,0 ммоль/л (д). Стрелками указаны интактные культивируемые зернистые нейроны.

Масштабный отрезок 15 мкм

В исследованном диапазоне концентраций (0,1; 0,2; 0,5 и 1 ммоль/л) аскорбат натрия не обладает токсическим действием, не влияя на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без воздействия глутамата.

Сравнительная характеристика действия солей лития и натрия на выживаемость культивированных зернистых нейронов без воздействия глутамата

Результаты сравнительной характеристики действия солей лития и натрия на выживаемость КЗН без воздействия глутамата представлены на рис. 49–52. Добавление солей лития (LiCl, Li₂CO₃, LiAsc, Li₃Cit) и натрия (NaAsc, NaCit) в концентрации 0,1 ммоль/л не изменяло выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без использования глутаматной модели стресса ($p > 0,05$) (рис. 49).

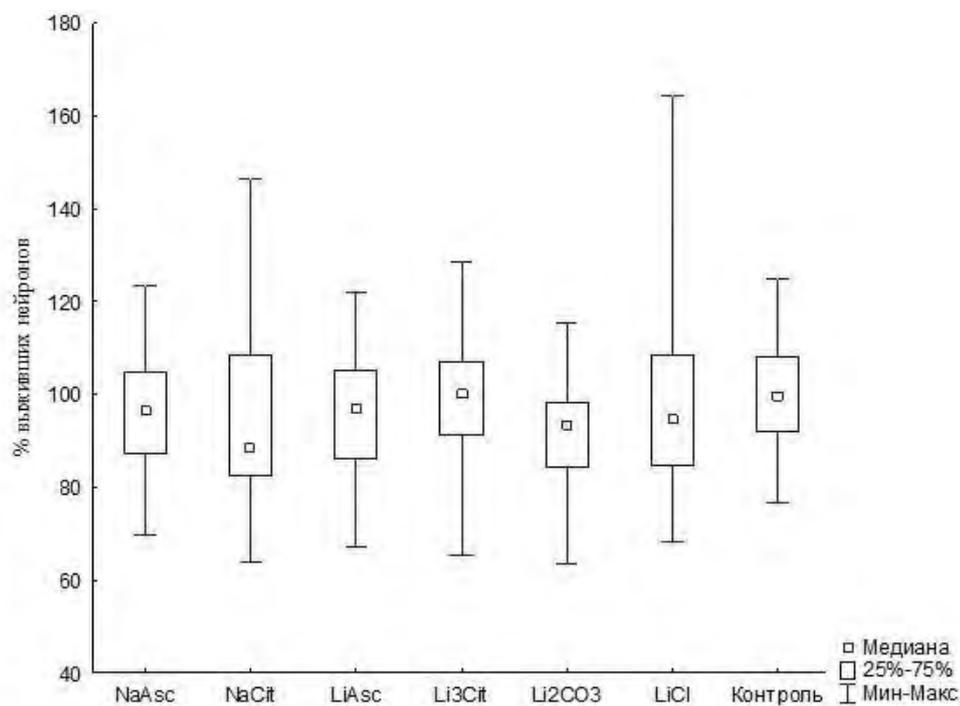


Рисунок 49 — Сравнение действия различных солей лития

(в концентрации 0,1 ммоль/л) на культивированные зернистые нейроны

Примечание: NaAsc — аскорбат натрия, NaCit — цитрат натрия, LiAsc — аскорбат лития, Li₃Cit — цитрат лития. Статистическая значимость определялась в соответствии с критерием

Колмогорова — Смирнова

Добавление солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , LiAsc , Li_3Cit) и натрия (NaAsc , NaCit) в концентрации 0,2 ммоль/л не изменяло выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без использования глутаматной модели стресса ($p > 0,05$) (рис. 50).

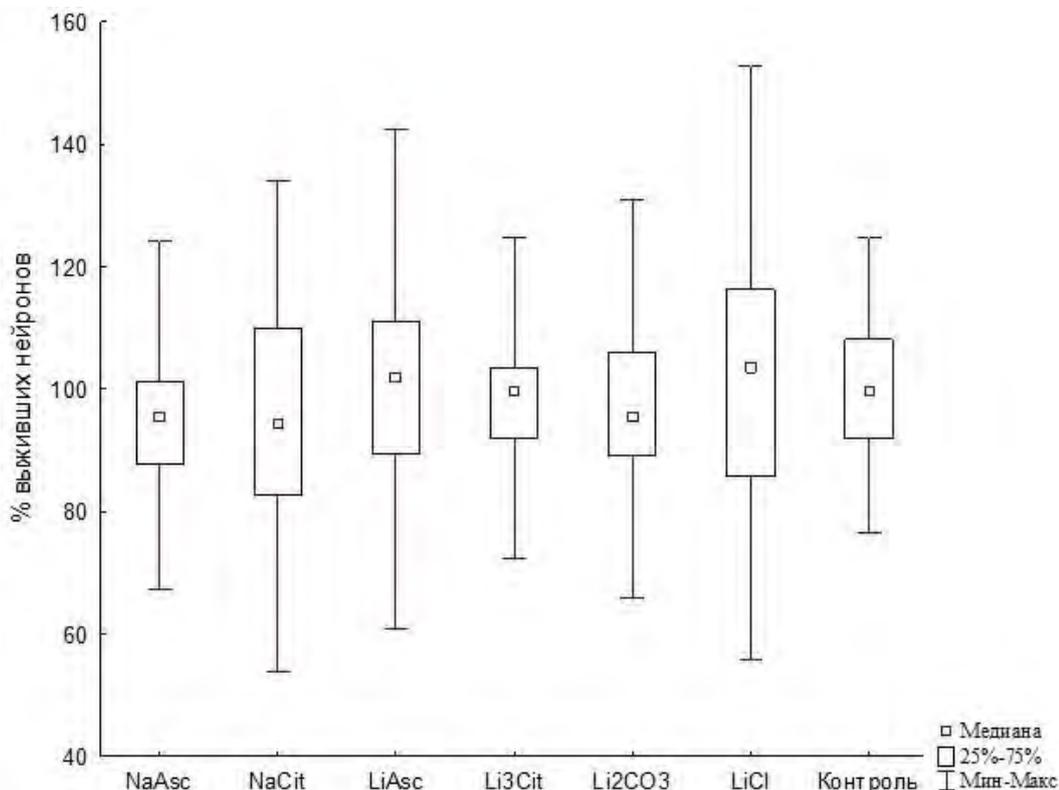


Рисунок 50 — Сравнение действия различных солей лития

(в концентрации 0,2 ммоль/л) на культивированные зернистые нейроны

Примечание: NaAsc — аскорбат натрия, NaCit — цитрат натрия, LiAsc — аскорбат лития, Li_3Cit — цитрат лития. Статистическая значимость определялась в соответствии с критерием Колмогорова — Смирнова

Добавление солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , LiAsc , Li_3Cit) и аскорбата натрия (NaAsc) в концентрации 0,5 ммоль/л не изменяло выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без использования глутаматной модели стресса ($p > 0,05$). Добавление цитрата натрия в концентрации 0,5 ммоль/л достоверно снижало выживаемость нейронов по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) (рис. 51).

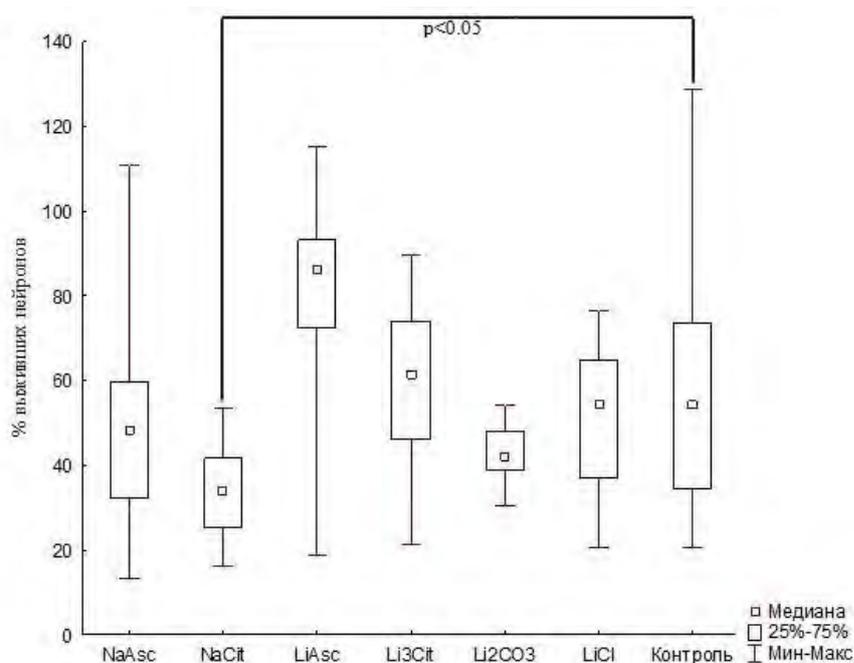


Рисунок 51 — Сравнение действия различных солей лития

(в концентрации 0,5 ммоль/л) на культивированные зернистые нейроны

Примечание: NaAsc — аскорбат натрия, NaCit — цитрат натрия, LiAsc — аскорбат лития, Li₃Cit — цитрат лития. Статистическая значимость определялась в соответствии с критерием

Колмогорова — Смирнова

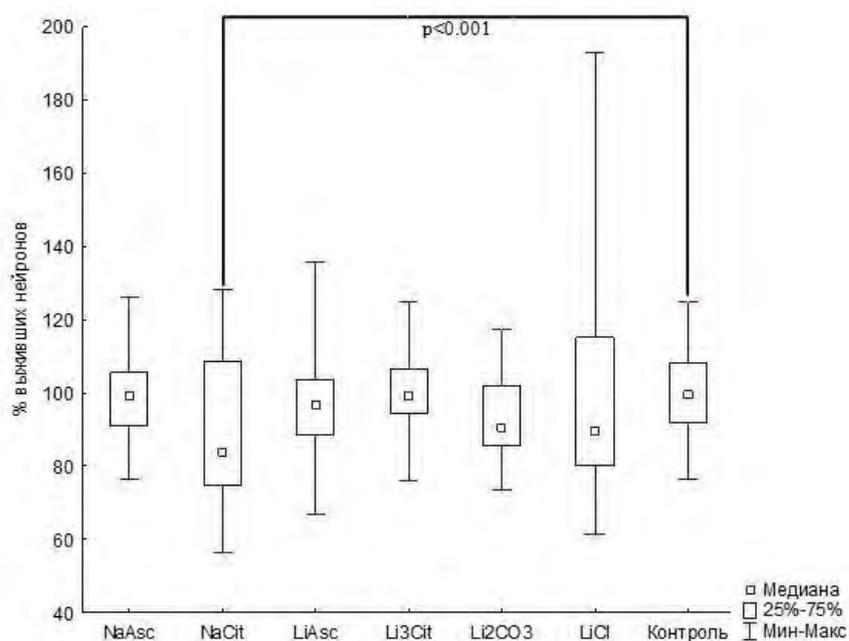


Рисунок 52 — Сравнение действия различных солей лития

(в концентрации 1,0 ммоль/л) на культивированные зернистые нейроны

Примечание: NaAsc — аскорбат натрия, NaCit — цитрат натрия, LiAsc — аскорбат лития, Li₃Cit — цитрат лития. Статистическая значимость определялась в соответствии с критерием

Колмогорова — Смирнова

Добавление солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , LiAsc , Li_3Cit) и аскорбата натрия (NaAsc) в концентрации 1,0 ммоль/л не изменяло выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка без использования глутаматной модели стресса ($p > 0,05$). Добавление же цитрата натрия в концентрации 1,0 ммоль/л достоверно снижало выживаемость нейронов по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) (см. рис. 52).

3.2.2. Оценка влияния солей лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса

Влияние карбоната лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса

В условиях глутаматного стресса при добавлении в культуру 100 мкмоль/л глутамата карбонат лития в концентрациях 0,1; 0,2; 0,5 ммоль/л не имел достоверного эффекта на выживаемость, а в концентрации 1,0 ммоль/л, наоборот, приводил к достоверному снижению выживаемости нейронов (в среднем, на 25%, $p < 0,001$) (рис. 53).

Приведены значения, характеризующие действие карбоната лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка при воздействии глутамата (табл. 14). На фоне добавления различных концентраций карбоната лития при условии воздействия глутамата в концентрации 100 мкмоль/л в исследуемых культурах произошло достоверное снижение выживаемости при добавлении карбоната лития в концентрации 1,0 ммоль/л. Медиана выживаемости при воздействии глутамата составила 68,7 ($q_{25\%} = 55,87$, $q_{75\%} = 79,32$), в культуре с добавлением карбоната лития в концентрации 0,1 ммоль/л — 67,35 ($q_{25\%} = 53,75$, $q_{75\%} = 75,07$; $p > 0,8$), в концентрации 0,2 ммоль/л — 63,22 ($q_{25\%} = 51,27$,

$q_{75\%} = 109,3$; $p > 0,5$), в концентрации 0,5 ммоль/л — 64,21 ($q_{25\%} = 45,62$, $q_{75\%} = 77,26$; $p > 0,3$), в концентрации 1,0 ммоль/л — 45,06 ($q_{25\%} = 36,42$, $q_{75\%} = 62,09$, $p < 0,0005$). При добавлении карбоната лития в концентрации 1,0 ммоль/л произошло достоверное снижение выживаемости культивированных зернистых нейронов мозжечка ($p < 0,05$ по сравнению с контролем) в соответствии с t-критерием.

Результаты морфологических исследований представлены в фотографиях, где мы видим снижение количества нейронов мозжечка в глутаматной модели стресса при добавлении карбоната лития в концентрации 1,0 ммоль/л (рис. 54, д).

Таким образом, при непосредственном воздействии раствора карбоната лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка в условиях глутаматного стресса в концентрации 1,0 ммоль/л происходит снижение выживаемости культивированных зернистых нейронов мозжечка. Настоящее исследование позволяет утверждать скорее нейротоксический, чем нейропротекторный эффект этой соли лития.

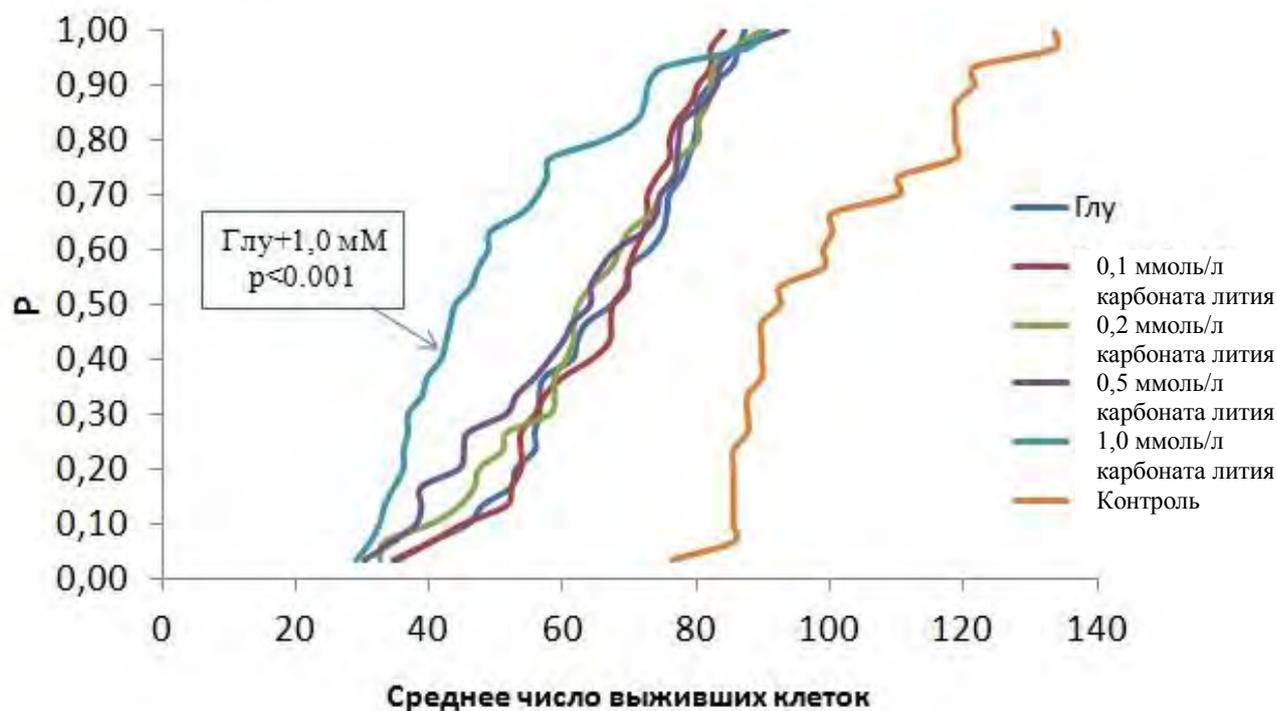


Рисунок 53 — Выживаемость культур нейронов при различных концентрациях карбоната лития. Эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов

Таблица 14 — Основные статистические показатели выживаемости при воздействии карбоната лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка в условиях глутаматного стресса

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	35,36	34,65	32,53	30,41	29
1-й квартиль, 25%	55,87	53,75	51,27	45,62	36,42
Медиана	68,7	67,35	63,22	64,21	45,06*
3-й квартиль, 75%	79,32	75,07	78,85	77,26	62,09
Максимальное значение	87,35	84,16	89,71	93,48	90,65
Среднеквадратическое отклонение	14,32	13,26	15,68	17,36	16,99
Стандартная ошибка	2,614	2,506	2,863	3,169	3,103
Нижняя граница ДИ	61	59,67	58,21	56,1	43,92
Верхняя граница ДИ	71,69	69,95	69,92	69,06	56,61

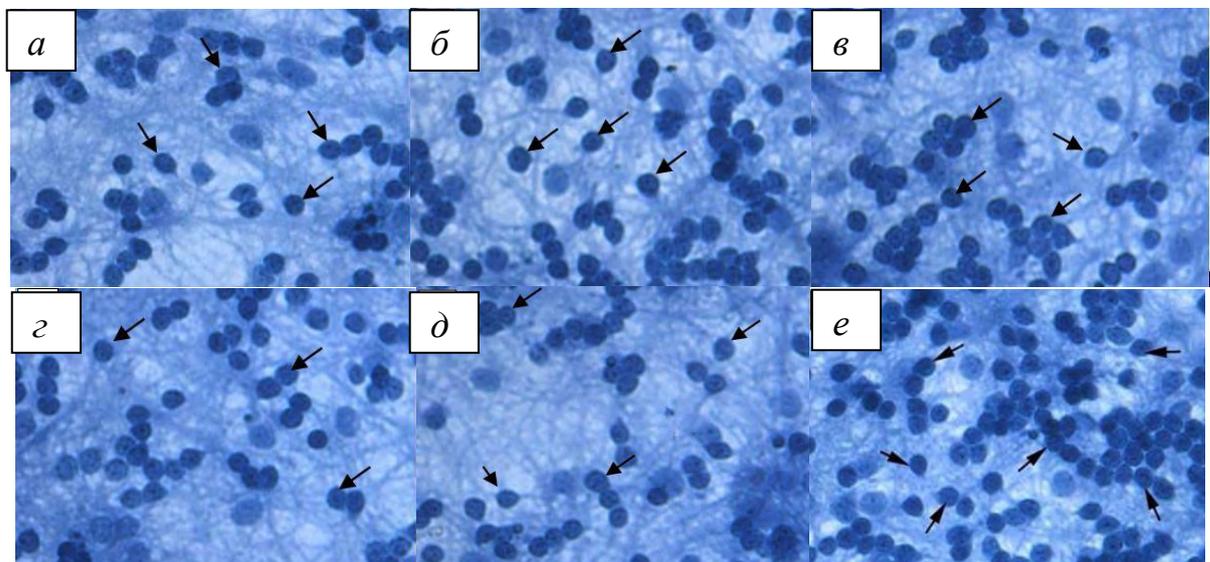


Рисунок 54 — Культивированные зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле после воздействия глутамата (а), после культивации с карбонатом лития в течение 2 суток в глутаматной модели стресса в концентрации 0,1 ммоль/л (б), 0,2 ммоль/л (в), 0,5 ммоль/л (г); 1,0 ммоль/л (д), в контроле (е). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны. Масштабный отрезок 15 мкм

**Влияние хлорида лития на выживаемость
культивированных зернистых нейронов мозжечка
в условиях глутаматного стресса**

В условиях глутаматного стресса при добавлении в культуру 100 мкмоль/л глутамата хлорид лития в концентрациях 0,1–1,0 ммоль/л не имел статистически значимого влияния на выживаемость (рис. 55). Более того, при глутаматной токсичности хлорид лития в концентрации 0,5 ммоль снижал выживаемость КЗН на уровне статистической значимости $p = 0,13$.

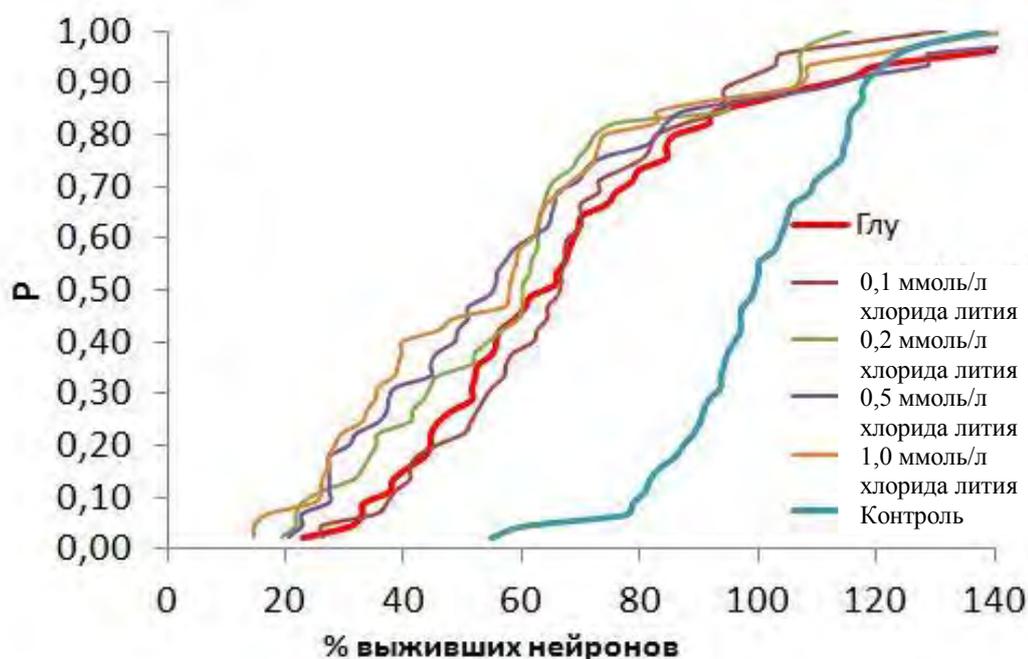


Рисунок 55 — Выживаемость культур нейронов при различных концентрациях хлорида лития. Эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов при различных концентрациях хлорида лития

Значения, характеризующие воздействие хлорида лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка при воздействии глутамата, приведены в табл. 15. При цитотоксическом действии глутамата хлорид лития не имел достоверного эффекта ($p > 0,05$), незначительно снижая выживаемость КЗН по сравнению с глутаматом.

Таблица 15 — Основные статистические показатели выживаемости при воздействии хлорида лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка в условиях глутаматного стресса

Значения	Глутамат	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	22,8	26,22	19,38	20,52	14,82
1-й квартиль, 25 %	46,73	51,86	41,23	36,43	33,48
Медиана	65,46	66,63	60,2	55,52	58,13
3-й квартиль, 75 %	84,35	81,24	70,42	77,15	72,76
Максимальное значение	182,40	131,40	115,70	204,30	142,90
Среднеквадратическое отклонение	32,75	23,19	25,97	37,91	31,30
Стандартная ошибка	4,882	3,457	3,871	5,651	4,665
Нижняя граница ДИ	60,12	60,28	52,62	51,75	49,05
Верхняя граница ДИ	79,80	74,21	68,23	74,53	67,86

Примечание. Отличий между группами не выявлено ($p > 0,05$) в соответствии с t-критерием.

Медиана выживаемости при воздействии глутамата составила 65,46 ($q_{25\%} = 46,73$, $q_{75\%} = 84,35$), в культуре с добавлением хлорида лития в концентрации 0,1 ммоль/л и глутамата — 66,63 ($q_{25\%} = 51,86$, $q_{75\%} = 81,24$, $p > 0,5$), в концентрации 0,2 ммоль/л и глутамата — 60,2 ($q_{25\%} = 41,23$, $q_{75\%} = 70,42$, $p > 0,1$), в концентрации 0,5 ммоль/л и глутамата — 55,52 ($q_{25\%} = 36,43$, $q_{75\%} = 77,15$, $p > 0,3$), в концентрации 1,0 ммоль/л и глутамата — 58,13 ($q_{25\%} = 33,48$, $q_{75\%} = 72,76$, $p > 0,05$).

Описанные выше результаты иллюстрируются отдельными примерами фиксированных культур нейронов в контроле после воздействия глутамата и после культивации с хлоридом лития в глутаматной модели стресса (рис. 56).

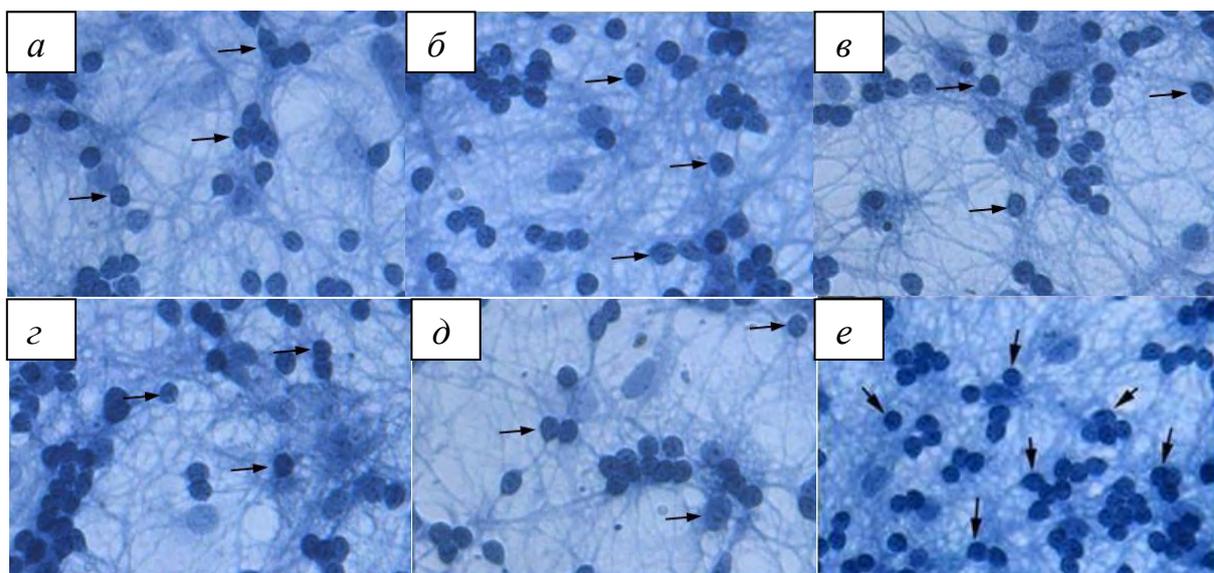


Рисунок 56 — Культивированные зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле после воздействия глутамата (*a*) и после культивации с хлоридом лития в глутаматной модели стресса в концентрации 0,1 ммоль/л (*б*), 0,2 ммоль/л (*в*), 0,5 ммоль/л (*г*), 1 ммоль/л (*д*), в контроле (*е*). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны. Масштабный отрезок 15 мкм

При цитотоксическом действии глутамата хлорид лития не имел достоверного влияния ($p > 0,05$) на выживаемость, незначительно снижая выживаемость по сравнению с глутаматом. В условиях глутаматной токсичности хлорид лития в концентрации 0,5 ммоль/л снижал выживаемость КЗН на уровне статистической достоверности $p = 0,13$.

Влияние аскорбата лития на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматного стресса

При цитотоксическом действии глутамата в концентрации 100 мкмоль/л аскорбат лития в указанном диапазоне концентраций оказывал выраженный нейропротекторный эффект. Результаты анализа функций распределения средних чисел выживших нейронов при концентрациях аскорбата лития 0,2; 0,5

и 1,0 ммоль/л показали достоверное отличие от результатов, полученных при действии глутамата без добавления соли лития (рис. 57). При повышении концентрации соли лития выраженность отличий возрастала (значения p снижались), а при самой высокой (1,0 мМ) отличия между глутаматной токсичностью и интактным контролем были на грани статистической значимости ($p < 0,00001$). Таким образом, аскорбат лития во всём исследованном диапазоне концентраций (0,2–1,0 мМ) достоверно повышал выживаемость нейронов при глутаматном стрессе.

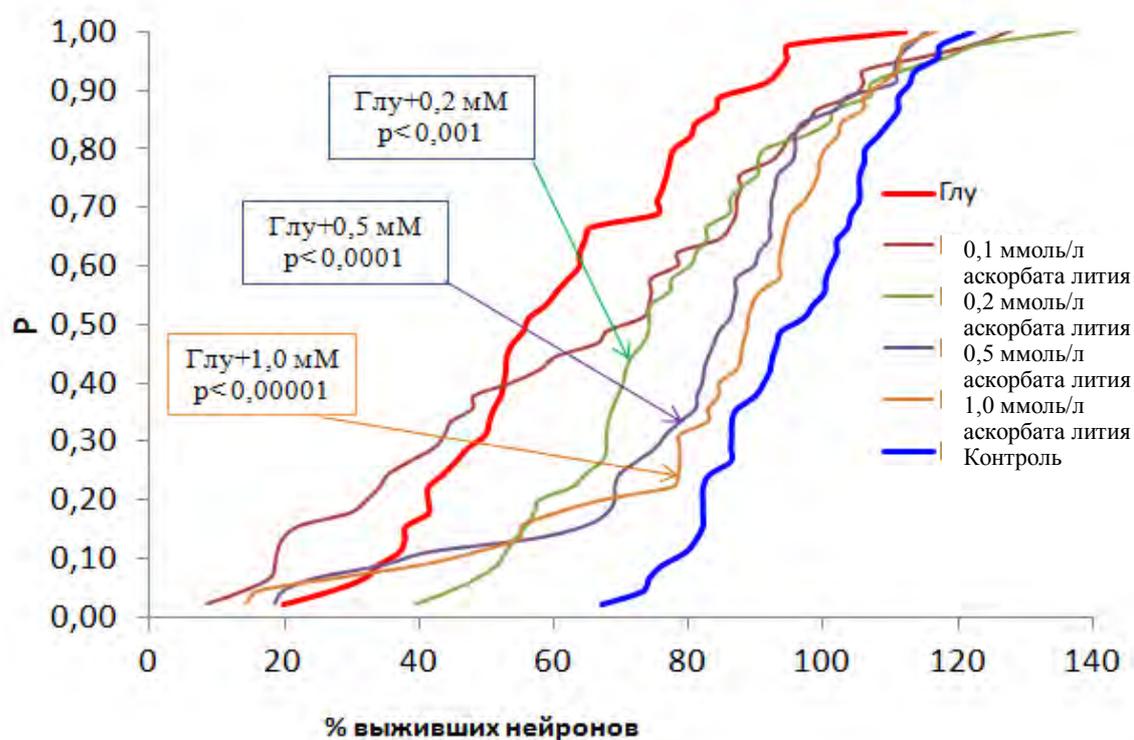


Рисунок 57 — Нейропротекторный эффект аскорбата лития при цитотоксическом действии глутамата 100 мкмоль/л на культивированные зернистые нейроны мозжечка

Значения, характеризующие действие аскорбата лития на КЗН мозжечка при воздействии глутамата, приведены в табл. 16. Рассчитаны следующие статистические показатели: медиана, стандартное отклонение (среднеквадратическое отклонение), нижний и верхний квартили, минимум, максимум, и уровень надежности результатов (границы доверительного интервала средних). При добав-

лении аскорбата лития и глутамата в концентрации 0,2 ммоль/л медиана составила 68,46 ($q_{25\%} = 43,43$, $q_{75\%} = 84,52$, $p < 0,001$), в концентрации 0,5 ммоль/л — 79,85 ($q_{25\%} = 34,45$, $q_{75\%} = 92,09$, $p < 0,0001$), в концентрации 1,0 ммоль/л — 82,84 ($q_{25\%} = 40,75$, $q_{75\%} = 94,86$, $p < 0,0001$).

Таблица 16 — Основные статистические показатели при воздействии аскорбата лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка в условиях глутаматного стресса

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	19,94	8,723	17	14	10
1-й квартиль, 25 %	41,42	29,45	43,43	34,45	40,75
Медиана	52,8	48,03	68,46*	79,85*	82,84*
3-й квартиль, 75 %	71,19	86,71	84,52	92,09	94,86
Максимальное значение	112,2	127,7	137,1	115,3	116,8
Среднеквадратическое отклонение	20,41	31,7	28,56	31,85	32,42
Стандартная ошибка	2,635	4,092	3,687	4,112	4,186
Нижняя граница ДИ	51,03	49,26	58,87	58,84	61,54
Верхняя граница ДИ	61,58	65,64	73,63	75,3	78,29

* Отличия между группами ($p < 0,05$ по сравнению с контролем) в соответствии с t-критерием.

Описанные выше результаты иллюстрируются отдельными примерами фиксированных культур нейронов в контроле после воздействия глутамата и после культивации с аскорбатом лития в глутаматной модели стресса. Мы видим значительное увеличение количества выживших нейронов при добавлении аскорбата лития в концентрациях от 0,2 до 1,0 ммоль/л по сравнению с исходными данными (рис. 58).

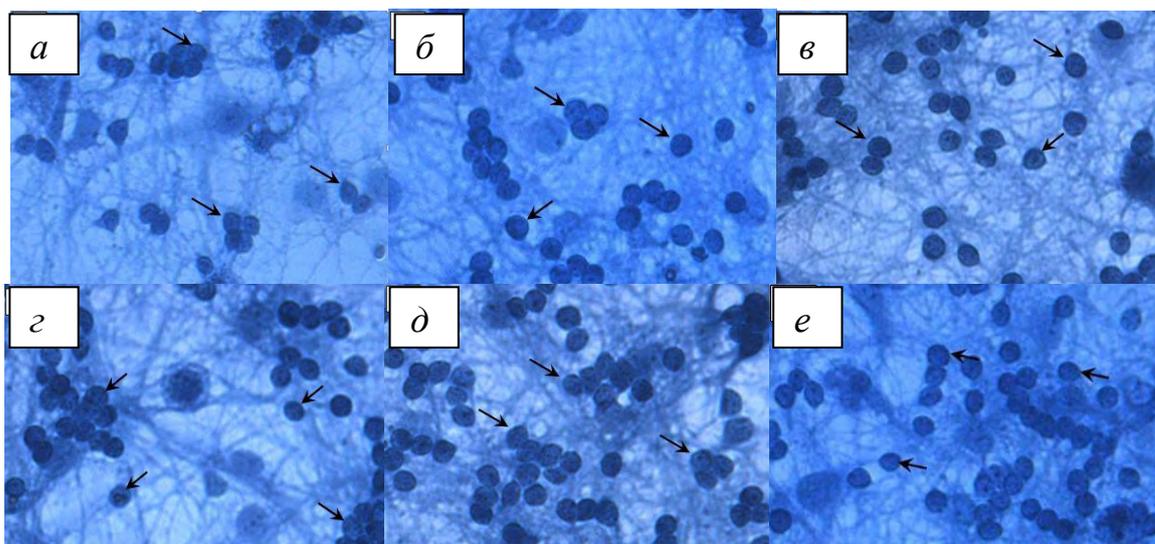


Рисунок 58 — Культивированные зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле после воздействия глутамата (*a*) и после культивации с аскорбатом натрия в глутаматной модели стресса в концентрации 0,1 ммоль/л (*б*), 0,2 ммоль/л (*в*), 0,5 ммоль/л (*г*), 1 ммоль/л (*д*), в контроле (*е*). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны.

В условиях глутаматного стресса аскорбат лития в концентрациях 0,2; 0,5 и 1,0 мМ достоверно и дозозависимо повышал выживаемость КЗН мозжечка. Наиболее выраженный нейропротекторный эффект наблюдался при концентрации аскорбата в 1 мМ: выживаемость нейронов повышалась в среднем на 11% ($p < 0,001$).

**Влияние цитрата лития на выживаемость
культивированных зернистых нейронов мозжечка
в условиях глутаматного стресса**

При цитотоксическом действии глутамата в концентрации 100 мкмоль/л цитрат лития оказывал выраженный нейропротекторный эффект. Результаты анализа функций распределения средних чисел выживших нейронов при всех

концентрациях цитрата лития показал достоверное отличие от результатов, полученных при действии глутамата без добавления соли (рис. 59). Добавление в культуру клеток цитрата лития в концентрации 0,2 ммоль/л приводило к достоверному отличию ($p < 0,05$). При повышении концентрации соли лития выраженность отличий оставалась достоверной (при использовании концентрации 0,5 ммоль/л; $p < 0,05$). Таким образом, цитрат лития в исследованном диапазоне концентраций (0,2–0,5 мМ) достоверно повышал выживаемость нейронов при глутаматном стрессе.

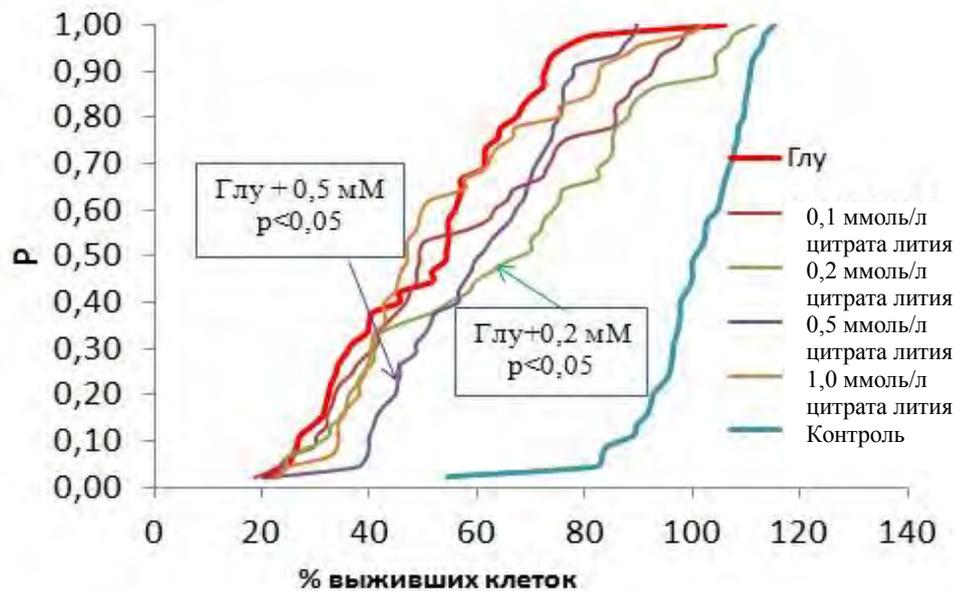


Рисунок 59 — Обобщение проведенных экспериментов: эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов при различных концентрациях цитрата лития в условиях глутаматного стресса при добавлении 100 мкмоль глутамата

Значения, характеризующие действие цитрата лития на КЗН мозжечка при воздействии глутамата приведены в табл. 17. При цитотоксическом действии глутамата цитрат лития в концентрации 0,2 и 0,5 ммоль/л оказывал выраженный нейропротективный эффект ($p < 0,05$). При добавлении цитрата лития в концентрации 0,2 ммоль/л и глутамата медиана составила 69,95 ($q_{25\%} = 39,58$, $q_{75\%} = 85,48$, $p < 0,05$), в концентрации 0,5 ммоль/л и глутамата — 61,44 ($q_{25\%} = 45,87$, $q_{75\%} = 74,1$, $p < 0,05$).

Таблица 17 — Основные статистические показатели выживаемости при воздействии цитрата лития на культивированные зернистые нейроны мозжечка в условиях глутаматного стресса

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	20,51	18,6	22,89	21,46	22,89
1-й квартиль, 25 %	34,1	37,08	39,58	45,87	39,52
Медиана	54,37	49,27	69,95*	61,44*	47,09
3-й квартиль, 75 %	64,17	81,28	85,48	74,1	66,98
Максимальное значение	105,9	100,3	111,5	89,69	102,2
Среднеквадратическое отклонение	18,49	24,19	26,51	16,2	20,18
Стандартная ошибка	2,756	3,606	3,951	2,415	3,009
Нижняя граница ДИ	45,86	50,78	57,1	55,87	48,03
Верхняя граница ДИ	56,96	65,31	73,02	65,6	60,16

* Отличия между группами ($p < 0,05$ по сравнению с контролем) в соответствии с t-критерием.

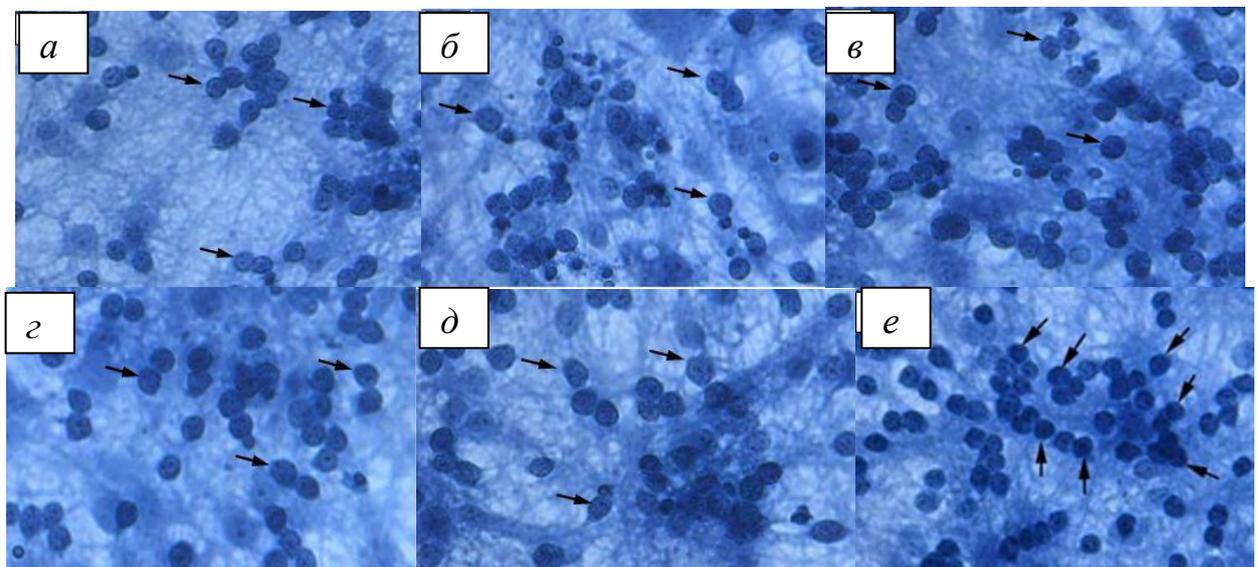


Рисунок 60 — Культивированные зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле в условиях глутаматного стресса (а) и после культивации с цитратом лития в течение 5 суток в концентрации 0,1 мМ (б), 0,2 мМ (в), 0,5 мМ (г), 1,0 мМ (д), в контроле (е). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны. Масштабный отрезок 15 мкм

Описанные выше результаты иллюстрируются отдельными примерами фиксированных культур нейронов в контроле после воздействия глутамата и после культивации с цитратом лития в глутаматной модели стресса (см. рис. 60). Наглядно показано увеличение количества выживших нейронов в концентрациях 0,2 и 0,5 ммоль/л (см. рис. 60, в, з).

В условиях сильного глутаматного стресса (при 100 мкМ глутамата выживало в среднем 30% нейронов) наблюдалось дозозависимое возрастание нейропротекторного эффекта цитрата лития. Наибольший эффект наблюдался при концентрации 0,5 мМ (повышение выживаемости нейронов на 16%, $p < 0,05$).

**Влияние цитрата натрия на выживаемость
культивированных зернистых нейронов мозжечка
в условиях глутаматного стресса**

В условиях глутаматного стресса цитрат натрия в концентрациях 0,1; 0,2 и 0,5 ммоль/л не имел достоверного эффекта на выживаемость, а в концентрации 1 ммоль/л, приводил к увеличению выживаемости нейронов (в среднем на 25%, $p < 0,001$ (рис. 61).

Значения, характеризующие действие аскорбата натрия на КЗН мозжечка в условиях воздействия глутамата приведены в табл. 18.

На фоне добавления различных концентраций цитрата натрия в условиях глутаматного стресса в исследуемых культурах при добавлении цитрата натрия в концентрации 1,0 мМ было выявлено достоверное изменение ($p < 0,05$). Так, при добавлении цитрата натрия и глутамата в концентрации 1,0 ммоль/л медиана составила 39,66 ($q_{25\%} = 33,16$, $q_{75\%} = 50,07$, $p < 0,0001$).

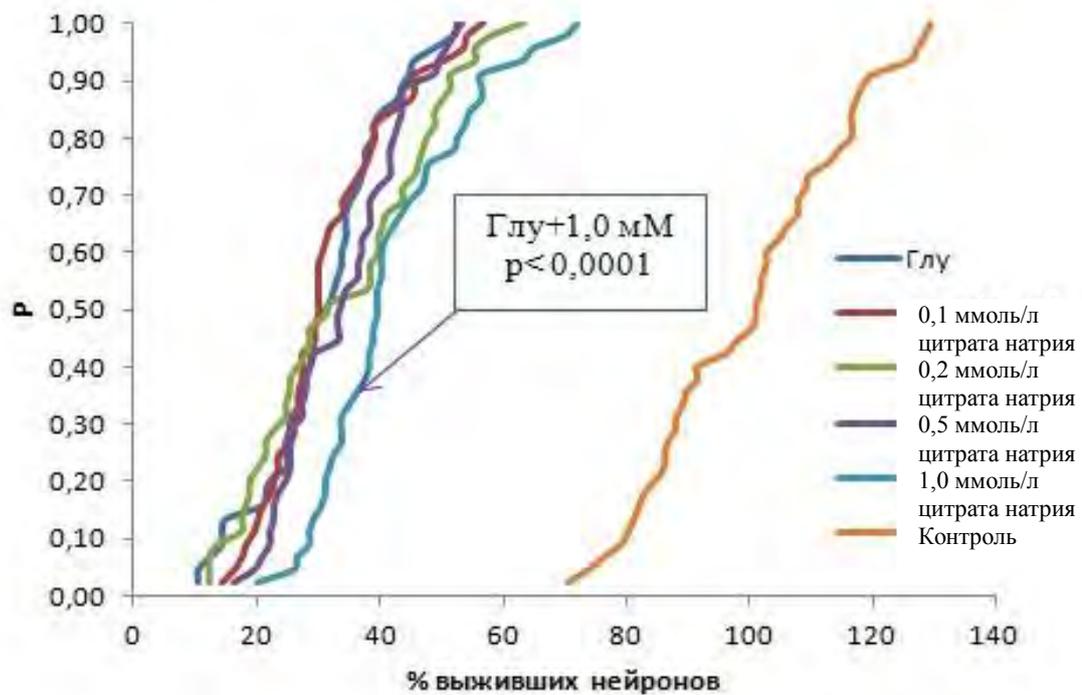


Рисунок 61 — Выживаемость культур нейронов при различных концентрациях цитрата натрия. Эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов

Таблица 18 — Основные статистические показатели при воздействии цитрата натрия на культивируемые зернистые нейроны мозжечка в условиях глутаматного стресса

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	10,40	14,30	12,35	16,25	20,16
1-й квартиль, 25 %	24,71	24,38	21,46	25,36	33,16
Медиана	31,86	29,91	31,86	33,81	39,66*
3-й квартиль, 75 %	37,71	38,04	46,49	41,61	50,07
Максимальное значение	52,67	56,57	63,07	53,32	72,17
Среднеквадратическое отклонение	10,55	10,31	14,15	9,66	12,01
Стандартная ошибка	1,572	1,537	2,110	1,441	1,791
Нижняя граница ДИ	27,87	28,40	29,80	31,08	38,38
Верхняя граница ДИ	34,21	34,60	38,31	36,89	45,60

* Отличия между группами ($p < 0,05$ по сравнению с контролем) в соответствии с t-критерием.

Описанные выше результаты иллюстрируются отдельными примерами фотографий фиксированных культур нейронов в контроле после воздействия глутамата и после культивации с цитратом натрия в глутаматной модели стресса (рис. 62).

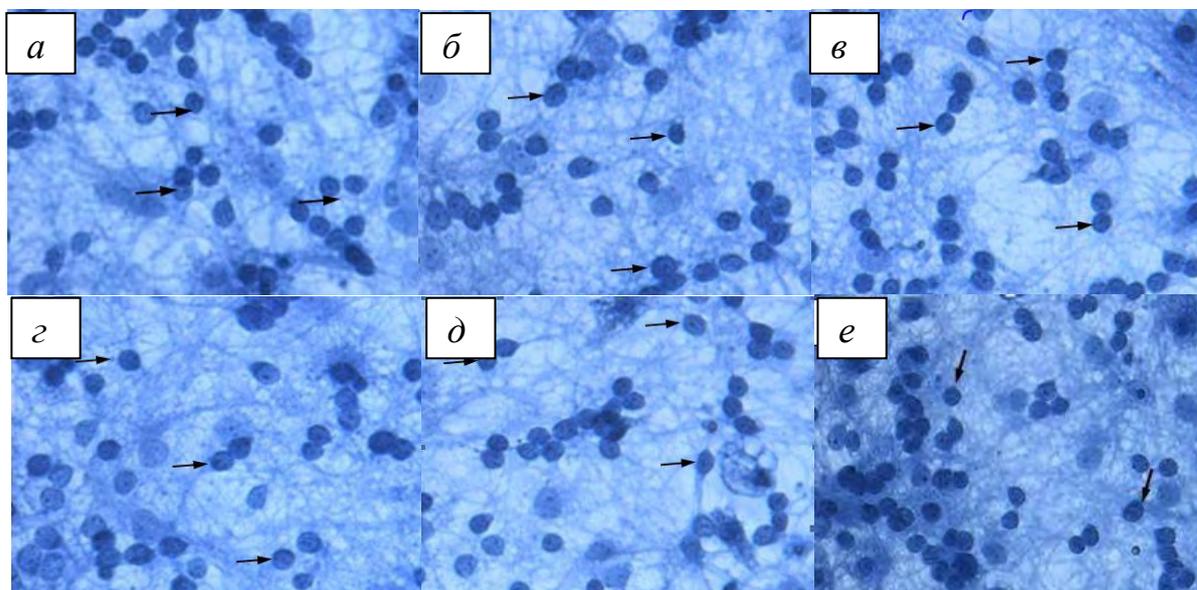


Рисунок 62 — Культивированные зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле после воздействия глутамата (*a*) и после культивации с цитратом натрия в глутаматной модели стресса в концентрации 0,1 мМ (*б*), 0,2 мМ (*в*), 0,5 мМ (*г*), 1 мМ (*д*) и в контроле (*е*). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны. Масштабный отрезок 15 мкм

Важно отметить, что в условиях глутаматного стресса действующими нейропротекторными началами цитрата лития являются и ион лития, и цитрат-анион. Это подтверждают результаты нейроцитологического исследования эффектов цитрата натрия. Заметим, что ион натрия не способствует повышению выживания нейронов в условиях глутаматного стресса. В проведённой серии экспериментов с цитратом натрия при умеренном глутаматном стрессе выживало в среднем 43% нейронов. Добавление цитрата натрия в концентрациях 0,1; 0,2; 0,5 и 1 мМ повышало выживаемость до 45, 48, 52 и 38% соответственно. Таким образом, цитрат натрия в концентрации 0,5 мМ незначительно (на 9%), но способствовал повышению выживаемости КЗН. Следовательно, и ион лития, и цитрат-анион в составе соли проявляют синергизм в нейропротекции при глутаматном стрессе.

**Влияние аскорбата натрия на выживаемость
культивированных зернистых нейронов мозжечка
в условиях глутаматного стресса**

В условиях глутаматного стресса аскорбат натрия в концентрациях 0,2 и 1,0 ммоль/л не имел достоверного эффекта на выживаемость, а в концентрации 0,1 и 0,5 мМ приводил к снижению выживаемости нейронов (рис. 63).

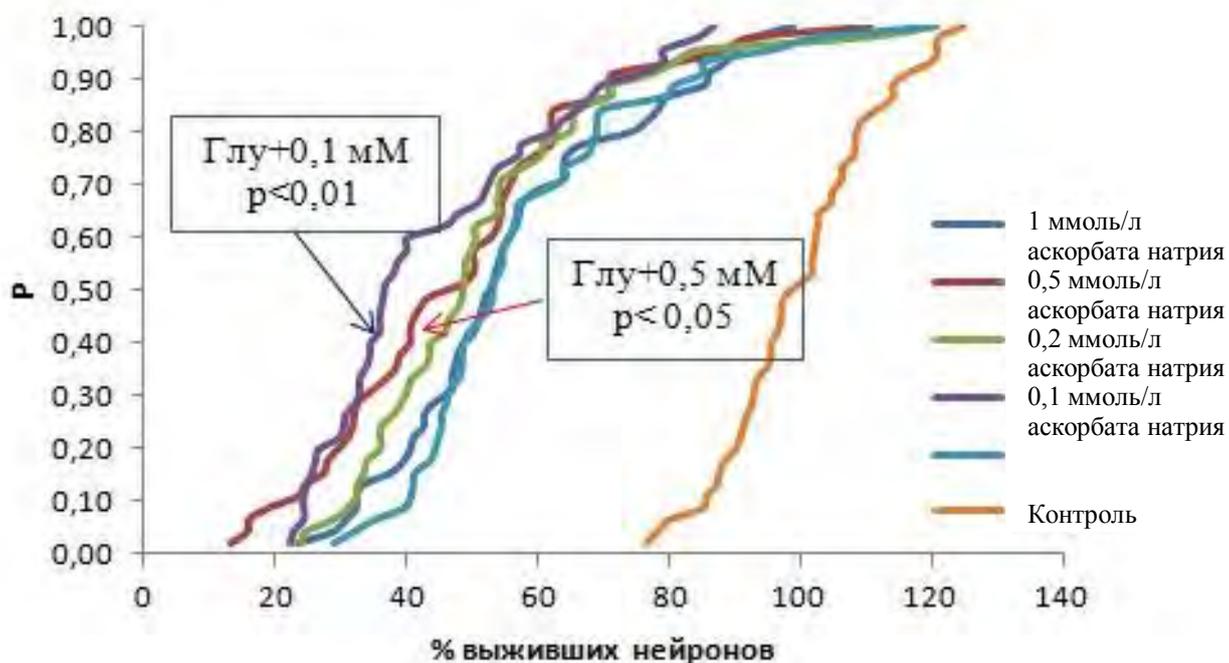


Рисунок 63 — Выживаемость культур нейронов при различных концентрациях аскорбата натрия. Эмпирические функции распределения значений выживаемости нейронов

На фоне добавления различных концентраций аскорбата натрия в условиях глутаматного стресса в исследуемых культурах нами было выявлено достоверное изменение при добавлении аскорбата натрия в концентрации 0,1 и 0,5 мМ ($p < 0,05$) (табл. 19). Медиана выживаемости при воздействии глутамата составила 52,96 ($q_{25\%} = 45,17$, $q_{75\%} = 67,66$), в культуре с добавлением цитрата натрия и глутамата в концентрации 0,1 ммоль/л — 36,6 ($q_{25\%} = 30,47$, $q_{75\%} = 57,27$,

$p < 0,005$), при добавлении аскорбата натрия и глутамата в концентрации 0,2 ммоль/л — 48,51 ($q_{25\%} = 36,93$, $q_{75\%} = 60,59$, $p > 0,1$), при добавлении аскорбата натрия и глутамата в концентрации 0,5 ммоль/л — 48,29 ($q_{25\%} = 32,02$, $q_{75\%} = 60,85$, $p < 0,05$), при добавлении аскорбата натрия и глутамата в концентрации 1,0 ммоль/л — 52,96 ($q_{25\%} = 42,56$, $q_{75\%} = 65,49$, $p > 0,5$).

Таблица 19 — Основные статистические показатели выживаемости при воздействии аскорбата натрия на культивированные зернистые нейроны мозжечка в условиях глутаматного стресса

Значения	Контроль	0,1 ммоль/л	0,2 ммоль/л	0,5 ммоль/л	1,0 ммоль/л
Минимальное значение	28,76	22,09	23,88	13,35	23,36
1-й квартиль, 25 %	45,17	30,47	36,93	32,02	42,56
Медиана	52,96	36,6*	48,51	48,29*	52,96
3-й квартиль, 75 %	67,66	57,27	60,59	60,85	65,49
Максимальное значение	120,00	86,81	120,90	110,60	98,72
Среднеквадратическое отклонение	18,71	18,58	20,09	21,11	18,74
Стандартная ошибка	2,789	2,769	2,995	3,148	2,793
Нижняя граница ДИ	51,95	38,85	45,58	41,67	50,34
Верхняя граница ДИ	63,19	50,02	57,66	54,36	61,60

* Отличия между группами ($p < 0,05$ по сравнению с контролем) в соответствии с t-критерием.

Описанные выше результаты иллюстрируются отдельными примерами фиксированных культур нейронов в контроле после воздействия глутамата и после культивации с аскорбатом натрия в глутаматной модели стресса (рис. 64). Наглядно показано снижение количества выживших нейронов в концентрациях 0,1 и 0,5 ммоль/л (рис. 64, б, г).

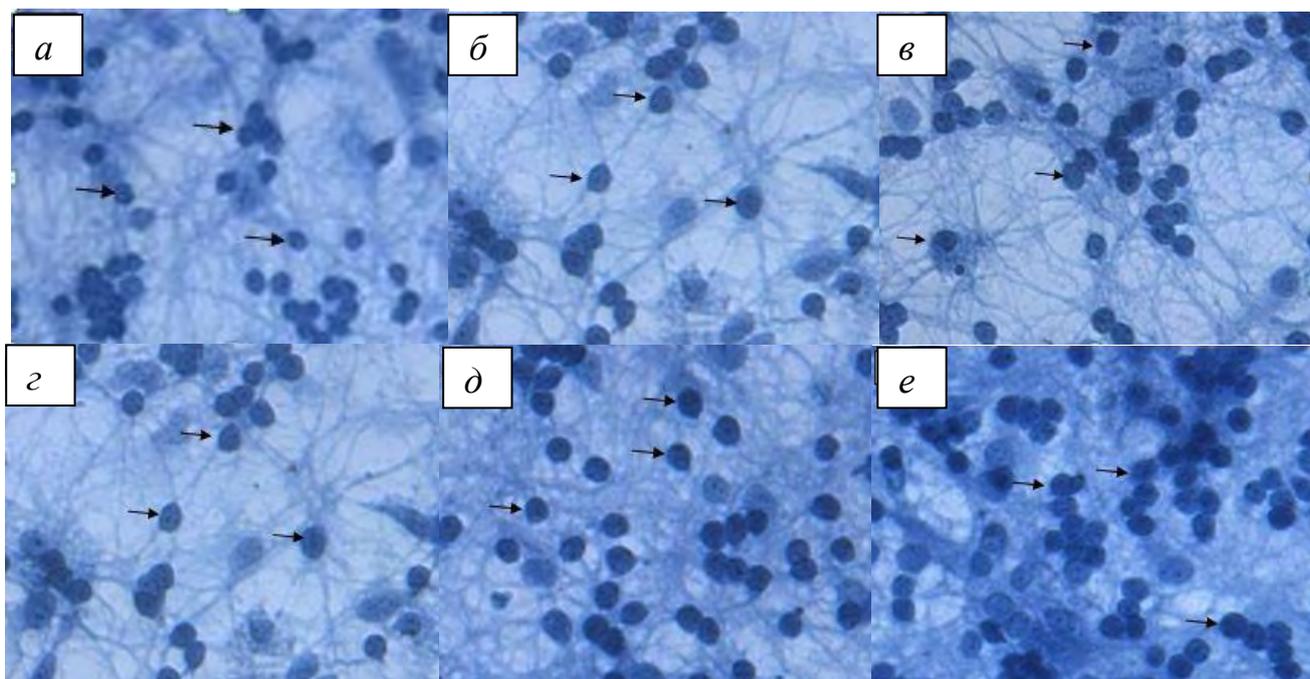


Рисунок 64 — Культивированные зернистые нейроны мозжечка крыс в контроле после воздействия глутамата (*a*) и после культивации с аскорбатом натрия в глутаматной модели стресса в концентрации 0,1 мМ (*б*), 0,2 мМ (*в*), 0,5 мМ (*г*), 1 мМ (*д*), в контроле (*е*). Стрелками указаны интактные культивированные зернистые нейроны. Масштабный отрезок 15 мкм

На фоне добавления различных концентраций аскорбата натрия в условиях глутаматного стресса в исследуемых культурах было выявлено достоверное снижение выживаемости КЗН при добавлении аскорбата натрия в концентрации 0,1 и 0,5 мМ ($p < 0,05$).

Сравнительная характеристика действия солей лития и натрия на выживаемость культивированных зернистых нейронов в условиях глутаматного стресса

Итак, результаты показали, что в исследованном диапазоне концентраций (0,1–1 мМ) неорганические соли лития (хлорид лития и карбонат лития) не обладают нейропротекторным эффектом. В то же время аскорбат лития и цитрат лития способствуют достоверному повышению выживаемости нейронов в субмиллимолярных концентрациях (рис. 65–68).

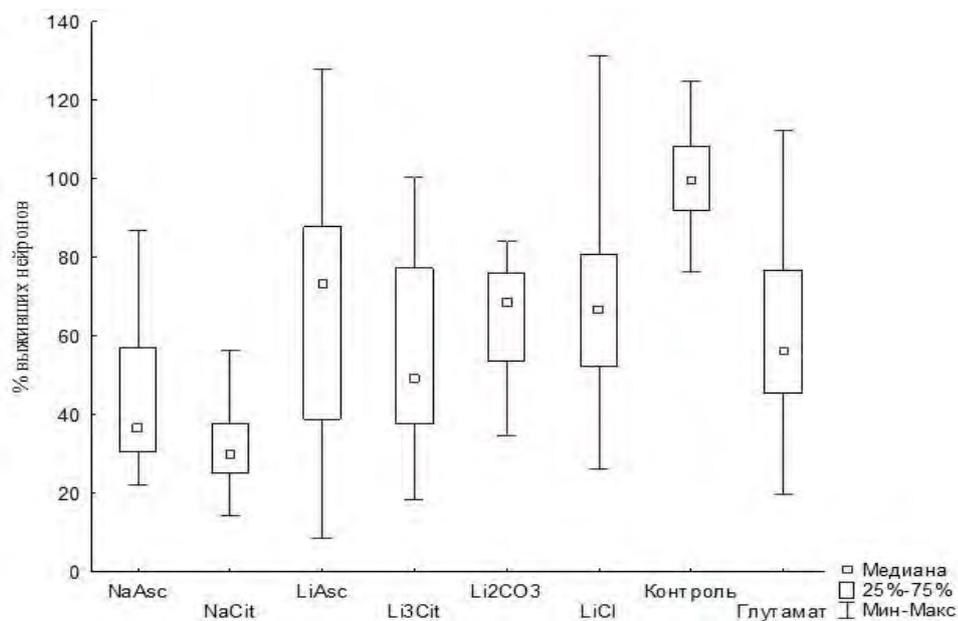


Рисунок 65 — Сравнение нейропротекторной эффективности различных солей лития (в концентрации 0,1 мМ) в условиях умеренного глутаматного стресса (выживало в среднем 30% нейронов при добавлении 100 мкМ глутамата).

Примечание: NaAsc — аскорбат натрия, NaCit — цитрат натрия, LiAsc — аскорбат лития, Li₃Cit — цитрат лития. Статистическая значимость определялась в соответствии с критерием Колмогорова — Смирнова

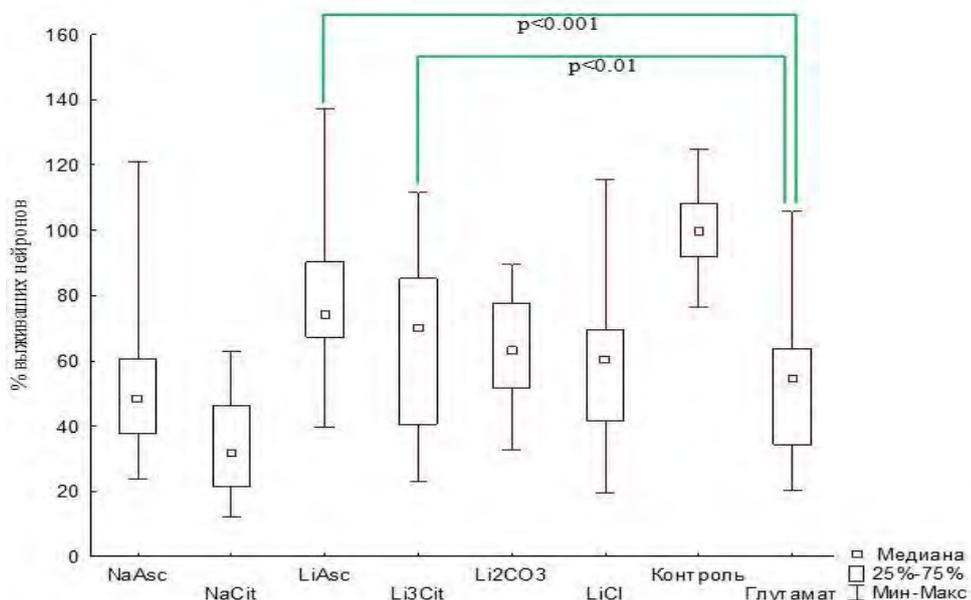


Рисунок 66 — Сравнение нейропротекторной эффективности различных солей лития (в концентрации 0.2 мМ) в условиях умеренного глутаматного стресса (выживало в среднем 50% нейронов при добавлении 100 мкМ глутамата).

Примечание: NaAsc — аскорбат натрия, NaCit — цитрат натрия, LiAsc — аскорбат лития, Li₃Cit — цитрат лития. Статистическая значимость определялась в соответствии с критерием Колмогорова — Смирнова

В условиях глутаматного стресса при добавлении в культуру 100 мкмоль/л глутамата соли лития (LiCl , Li_2CO_3 , LiAsc , Li_3Cit) и натрия (NaAsc , NaCit) в концентрации 0,1 мМ не изменяли выживаемость КЗН мозжечка.

Добавление неорганических солей лития (LiCl , Li_2CO_3) и натрия (NaAsc , NaCit) в концентрации 0,2 ммоль/л, не изменяло выживаемость КЗН мозжечка, добавляемого к нейронам в глутаматной модели стресса ($p > 0,05$). Добавление же органических солей лития (LiAsc , Li_3Cit) достоверно повышало выживаемость нейронов по сравнению с группой, где добавляли глутамат ($p < 0,01$) (рис. 67).

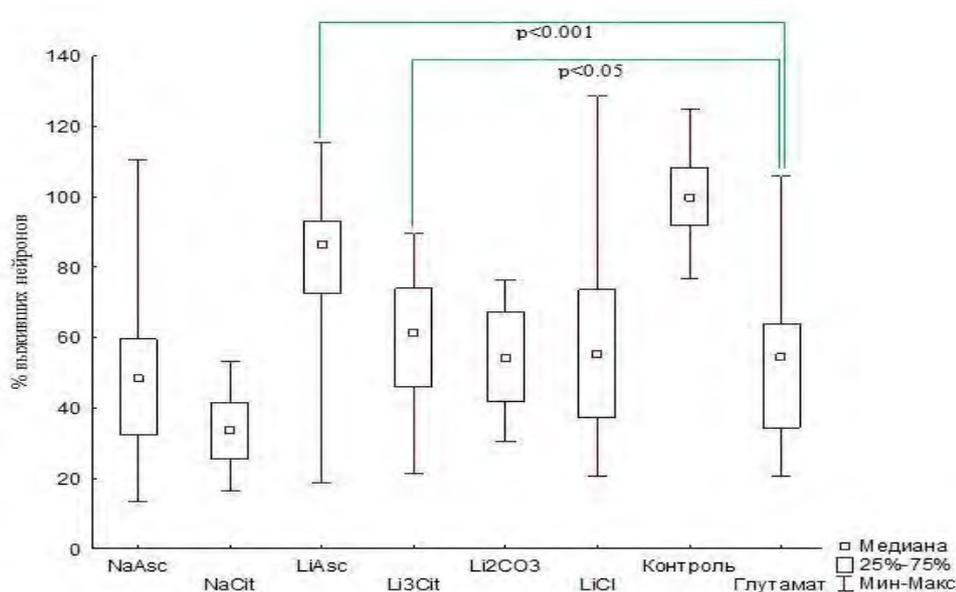


Рисунок 67 — Сравнение нейропротекторной эффективности различных солей лития (в концентрации 0.5 мМ) в условиях умеренного глутаматного стресса (выживало в среднем 50% нейронов при добавлении 100 мкМ глутамата).

Примечание: NaAsc — аскорбат натрия, NaCit — цитрат натрия, LiAsc — аскорбат лития, Li_3Cit — цитрат лития. Статистическая значимость определялась в соответствии с критерием Колмогорова — Смирнова

Добавление неорганических солей лития (LiCl , Li_2CO_3) и натрия (NaAsc , NaCit) в концентрации 0,5 ммоль/л не изменяло выживаемость КЗН мозжечка, добавляемого к нейронам в глутаматной модели стресса ($p > 0,05$). Добавление же органических солей лития (LiAsc , Li_3Cit) достоверно повышало выживаемость нейронов по сравнению с группой, где добавляли глутамат ($p < 0,01$) (рис. 68).

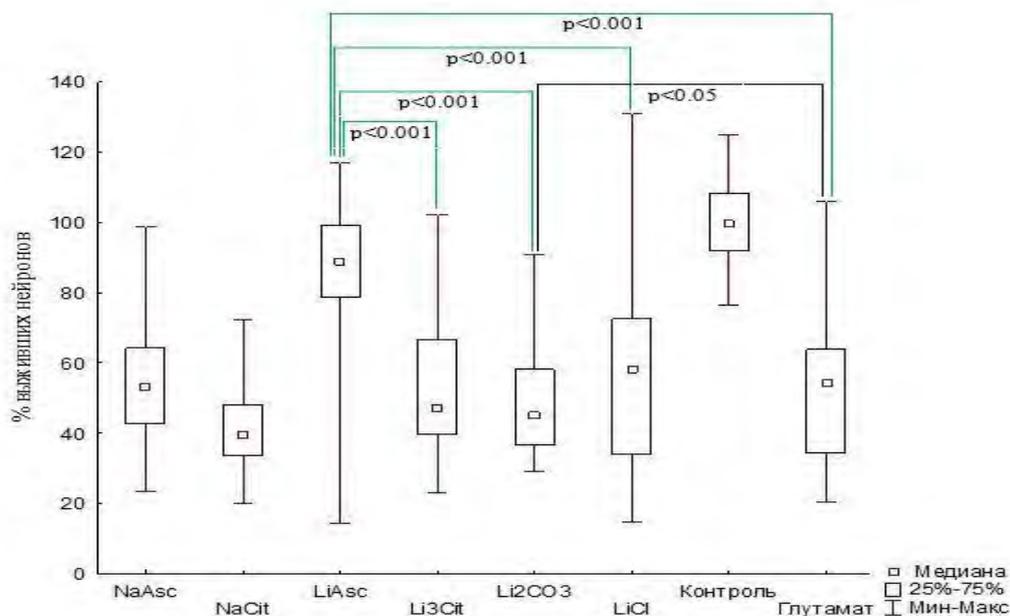


Рисунок 68 — Сравнение нейропротекторной эффективности различных солей лития (в концентрации 1,0 мМ) в условиях умеренного глутаматного стресса (выживало, в среднем, 50% нейронов при добавлении 100 мкМ глутамата).

Примечание: NaAsc — аскорбат натрия, NaCit — цитрат натрия, LiAsc — аскорбат лития, Li₃Cit — цитрат лития. Статистическая значимость определялась в соответствии с критерием Колмогорова — Смирнова

При добавлении карбоната лития в концентрации 1,0 ммоль/л происходило достоверное снижение выживаемости КЗН ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). Добавление аскорбата натрия приводило к увеличению выживаемости нейронов (в среднем на 25%, $p < 0,001$). Добавление органической соли лития (аскорбата лития) достоверно повышало выживаемость нейронов по сравнению с группой, в которой добавляли глутамат, а также неорганические соли лития и натрия ($p < 0,01$). Добавление хлорида лития и натрия в концентрации 1,0 ммоль/л не изменяло выживаемость КЗН мозжечка, добавляемого к нейронам в глутаматной модели стресса ($p > 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Крупнейшие эпидемиологические исследования последнего десятилетия выявили возрастание распространенности хронических НДЗ, что связано с неуклонным старением западной цивилизации.

Десятки миллионов людей в мире и миллионы в России страдают хроническими НДЗ, они быстро прогрессируют, что заканчивается инвалидизацией и летальным исходом. Деменцией страдает 5,4% населения мира старше 65 лет, или 35,6 млн человек, а к 2040 г. число заболевших может превысить 100 млн.

В то же время множеством эпидемиологических и клинических исследований доказано, что перспективным направлением в терапии НДЗ является использование препаратов лития, механизм нейропротекторного действия которых реализуется через: ингибирование GSK-3 β , стимулирование белка теплового шока (hsp70), ингибирование входа кальция в клетку через NMDA глутаминовые рецепторы и активацию ЕРК сигнального пути (Einat H., 2003, Gould T. D, 2004). История терапевтического применения карбоната лития насчитывает около 70 лет, не теряя своей актуальности и в настоящее время. Это связано с тем, что литий обладает широким спектром биологической активности, не имеющим аналогов.

Карбонат лития является «золотым стандартом» лечения аффективных расстройств. Однако в настоящее время накопился массив данных, подтверждающих нейропротекторный и нейрорегенеративный эффекты лития как при острых повреждениях мозга, так и при хронических НДЗ в экспериментальных моделях с использованием лабораторных животных. Кроме того, является доказанной роль ионов лития в протекании многих процессов в организме, например в метаболизме простых сахаров (Bosch F. et al., 1992, O'Neill R. D. et al., 1984), в обмене липидов (Diaz-Sastre C., 2005), регуляции артериального давления (Kohn T., 2007).

Несмотря на все положительные эффекты, препараты лития достаточно ограниченно используются в клинической практике из-за сложностей в подборе

терапевтической дозы, необходимости мониторинга его концентрации два раза в сутки, большого количества побочных эффектов. В связи с этим необходим поиск новых солей лития, не обладающих подобными недостатками. Ими являются органические соли лития, оказывающие свое действие в физиологических дозах (30–100 мкг/кг).

Таким образом, целью данной работы было изучение биораспределения лития при введении *per os* органических солей лития (цитрата, аскорбата) и сравнение эффектов органических солей лития (цитрата, аскорбата) и неорганических солей лития (хлорида, карбоната) на выживаемость культивированных зернистых нейронов мозжечка в условиях глутаматной токсичности *in vitro*, что в перспективе позволит расширить показания для применений данных органических солей лития в клинической практике.

Работа состояла из двух экспериментов: изучение биораспределения органических солей лития и оценка нейропротекторного эффекта солей лития и натрия на модели глутаматного стресса.

В первом эксперименте при введении органических солей лития (цитрата, аскорбата) *per os* однократно в дозе 1 мг/кг после забоя животных и отбора органов и биологических жидкостей у крыс в 9 временных точках: 0 мин, 45 мин, 1 ч, 1,5 ч, 3 ч, 6 ч, 12 ч, 24 ч, 48 ч — было установлено, что цитрат лития способствует поддержанию стабильных концентраций иона лития в крови (низкое значение наклона участка финального выведения ($Lz = 0,005$ 1/ч) и высокое значение периода полувыведения ($T_{1/2} = 146$ ч) и в головном мозге ($Lz = 0,001$ 1/ч и $T_{1/2} = 602$ ч), низкое значение клиренса ($CL = 0,004$ л/ч.)). Аскорбат лития наиболее стабильно накапливался именно в лобной доле головного мозга, C_{last} лития составила 40,5 мкг/л. Это было самое высокое значение концентрации через 48 ч среди всех исследованных биосубстратов. Этот вывод подтверждает и значение площади под кривой, которое для лобной доли головного мозга составило 2094 мкг/л×ч. Полученные данные показывают, что аскорбат и цитрат лития способствуют поддержанию стабильных концентраций иона лития в крови и в голов-

ном мозге, что важно для осуществления профилактического и терапевтического потенциала лития.

Второй эксперимент состоял из 2 этапов. На 1-м зернистые нейроны мозжечка выращивались в течение пяти суток при следующих концентрациях солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , $\text{LiC}_6\text{H}_7\text{O}$, $\text{Li}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) и натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$): 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мМ. Соли лития и натрия добавляли в среду культивирования на вторые сутки *in vitro* на весь срок культивирования (до 7 суток). На 7-е сутки производился подсчет КЗН мозжечка.

В результате нами было установлено, что добавление солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , $\text{LiC}_6\text{H}_7\text{O}$, $\text{Li}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) и аскорбата натрия ($\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) во всем диапазоне концентраций (0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 ммоль/л) не изменяло выживаемость КЗН мозжечка, добавляемого к нейронам без использования глутаматной модели стресса ($p > 0,05$).

Добавление же цитрата натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) в концентрациях 0,5 и 1,0 ммоль/л достоверно снижало выживаемость КЗН мозжечка без использования глутаматной модели стресса ($p < 0,05$).

На 2-м этапе в модели глутаматного стресса зернистые нейроны мозжечка выращивались в течение 5 суток при заданных концентрациях солей лития (LiCl , Li_2CO_3 , $\text{LiC}_6\text{H}_7\text{O}$, $\text{Li}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) и натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$): 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 ммоль/л. Соли лития и натрия добавляли в среду культивирования на 2-е сутки *in vitro* на весь срок культивирования (до 7 суток). На 6-е сутки осуществлялось добавление в культуру глутамата в концентрации 100 мкМ. На 7-е сутки производился подсчет клеток.

В условиях глутаматного стресса при добавлении в культуру 100 мкмоль/л глутамата карбонат лития в концентрациях 0,1; 0,2 и 0,5 ммоль/л не имел достоверного влияния на выживаемость КЗН, а в концентрации 1,0 ммоль/л, наоборот, приводил к достоверному снижению выживаемости нейронов (в среднем на 25%, $p < 0,001$).

При добавлении в культуру хлорид лития в концентрациях 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 ммоль/л не имел достоверного влияния на выживаемость КЗН.

Аскорбат лития в модели глутаматного стресса оказывал выраженный нейропротекторный эффект. Результаты анализа функций распределения средних чисел выживших нейронов при концентрациях аскорбата лития 0,2; 0,5 и 1,0 ммоль/л показали достоверное отличие от результатов, полученных при действии глутамата без добавления соли лития. Таким образом, аскорбат лития в исследованном диапазоне концентраций (0,2; 0,5 и 1,0 ммоль/л) достоверно повышал выживаемость нейронов при глутаматном стрессе.

Цитрат лития также оказывал выраженный нейропротекторный эффект. Результаты анализа функций распределения средних чисел выживших нейронов при концентрациях цитрата лития 0,2 и 0,5 мМ показал достоверное ($p < 0,05$) отличие от результатов, полученных при действии глутамата без добавления соли. Следовательно, цитрат лития в исследованном диапазоне концентраций (0,2 и 0,5 ммоль/л) достоверно повышал выживаемость нейронов при глутаматном стрессе.

В условиях глутаматного стресса цитрат натрия в концентрациях 0,1; 0,2 и 0,5 ммоль/л не имел достоверного влияния на выживаемость, а в концентрации 1 ммоль/л приводил к увеличению выживаемости нейронов (в среднем на 25%, $p < 0,001$). Важно отметить, что в условиях глутаматного стресса действующими нейропротекторными началами цитрата лития являются и ион лития, и цитрат-анион. Это подтверждают результаты нейроцитологического исследования эффектов цитрата натрия. Заметим, что ион натрия не способствует повышению выживания нейронов в условиях глутаматного стресса.

При глутаматном стрессе аскорбат натрия в концентрациях 0,2 и 1,0 ммоль/л не имел достоверного влияния на выживаемость, а в концентрации 0,1 и 0,5 ммоль/л приводил к снижению выживаемости нейронов.

В целом, полученные результаты позволяют сделать вывод о перспективности использования исследованных органических солей лития в качестве средства для лечения НДЗ головного мозга.

ВЫВОДЫ

1. При введении *per os* крысам однократно цитрата лития в дозе 1 мг/кг отмечается преимущественное накопление лития в крови и головном мозге.
2. Аскорбат лития, введенный *per os* однократно в дозе 1 мг/кг, вызывает увеличение содержания лития в крови, лобной доле головного мозга животных.
3. Неорганические соли лития (карбонат, хлорид), органические соли лития (цитрат, аскорбат) при добавлении в культуру зернистых нейронов мозжечка нетоксичны во всем диапазоне концентраций 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мМ.
4. Аскорбат натрия при добавлении в культуру зернистых нейронов мозжечка нетоксичен во всем диапазоне концентраций 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мМ. Органическая соль натрия (цитрат натрия) в концентрациях 0,5 и 1,0 мМ достоверно снижала выживаемость культивируемых зернистых нейронов мозжечка, добавляемого к нейронам без использования глутаматной модели стресса.
5. В условиях глутаматного стресса карбонат лития в концентрации 1,0 мМ приводил к достоверному снижению выживаемости нейронов, хлорид лития в концентрациях 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мМ не имел достоверного влияния на выживаемость, аскорбат лития на модели глутаматной токсичности оказывал нейропротекторное действие, повышая в концентрациях 0,2; 0,5 и 1,0 мМ выживаемость культивируемых зернистых нейронов мозжечка, цитрат лития на модели глутаматной токсичности оказывал нейропротекторное действие, повышая в концентрациях 0,2 и 0,5 мМ выживаемость культивируемых зернистых нейронов мозжечка.
6. Цитрат натрия в модели глутаматного стресса в концентрациях 0,1; 0,2 и 0,5 мМ не имел достоверного влияния на выживаемость, а в концентрации 1 мМ приводил к увеличению выживаемости нейронов, аскорбат натрия в концентрации 0,1 и 0,5 мМ, приводил к снижению выживаемости нейронов в условиях глутаматного стресса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные позволяют рассматривать органические соли лития (аскорбат, цитрат) как высокоэффективные и малотоксичные нейропротекторные средства и рекомендовать их для дальнейшего доклинического изучения в качестве нейропротекторных препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Рекомендуется продолжить изучение действия органических соединений лития для поиска новых нейропротекторов с целью лечения и профилактики нейродегенеративных заболеваний головного мозга.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БП	болезнь Паркинсона
БА	болезнь Альцгеймера
БГ	болезнь Гентингтона
ДИ	доверительный интервал
КЗН	культивируемые зернистые нейроны
НДЗ	нейродегенеративные заболевания
ПТ	противотранспорт
Акт	путь выживаемости протеинкиназы В
AUCt	площадь под кривой
Bcl-2	регулятор апоптоза
BDNF	нейротрофический фактор мозга
C_{last}	последняя измеренная концентрация лития
C_{max}	максимальная концентрация лития в биосубстрате
CL	клиренс
CREB	транскрипционный фактор
GSK-3	glycogen synthase kinase-3 (киназа гликогенсинтетазы-3)
Hsp70	белок теплового шока
IMP	инозитолмонофосфатаза
Lz	наклон участка финального выведения
LD50	полулетальная доза
MRTt	среднее время удержания
NMDA	N-метил-D-аспартат (аспарагиновая кислота)
PI3K	путь выживаемости фосфатидилинозитол-3-киназы
$T_{1/2}$	период полувыведения
t_{max}	время достижения максимальной концентрации
TrkB	тропомиозиновый тирозинкиназный рецептор

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабенкова, И. В. Влияние антиоксидантного препарата на основе биофлавоноидов и витамина С на антиоксидантную активность плазмы крови / И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин, А. В. Асейчев // *Вопр. питания.* — 1999. — Т. 68, № 3. С. 9–11.
2. Гехт, А. Б. Медицинские и социальные аспекты болезни Паркинсона / А. Б. Гехт, Г. Р. Попов // *Болезнь Паркинсона и расстройства движений* / под ред. С. Н. Иллариошкина, О. С. Левина. — М. : Соверо-пресс, 2014. — С. 221–227.
3. Гоголева, И. В. Влияние органических солей лития, магния, селена на элементный гомеостаз головного мозга на фоне экспериментальной хронической окклюзии общих сонных артерий : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.25 / Гоголева Ирина Викторовна. — М., 2009. — 23 с.
4. Гоголева, И. В. Соли лития в физиологической дозировке оказывают нейротропное и антиоксидантное действие / И. В. Гоголева, А. В. Снегирёв, В. А. Афолина // *I Всероссийская научная конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека»* : матер. конф. — Иваново, 2015. — С. 33–34.
5. Громова, О. А. Систематический анализ молекулярно-физиологических эффектов миоинозитола: данные молекулярной биологии, экспериментальной и клинической медицины / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, Т. Р. Гришина // *Эффективная фармакотерапия.* — 2013. — № 28. — С. 4–12.
6. Гуреева, Н. В. Аскорбиновая кислота как стресс-реализующий фактор и биотест в экологических исследованиях / Н. В. Гуреева // *Вестн. Тюменского государственного университета.* — 2011. — № 12. — С. 56–61.
7. Гусев, Е. И. Возможности вторичной профилактики инсульта: значение антигипертензивной и антиагрегантной терапии / Е. И. Гусев, А. Б. Гехт //

- Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Инсульт. Приложение. — 2002. — Вып. 5. — С. 43–49.
8. Иллариошкин, С. Н. Возрастзависимые заболевания мозга становятся новой эпидемией XXI века / С. Н. Иллариошкин // Нервные болезни. — 2017. — № 2. — С. 40–42.
 9. Казимирко, В. К. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев. — Киев : Морион, 2004. — 160 с.
 10. Левин, О. С. Болезнь Паркинсона / О. С. Левин, Н. В. Федорова. — М. : МЕДПресс-информ, 2012. — 352 с.
 11. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А. П. Авцын [и др.]. — М. : Медицина, 1991. — 496 с.
 12. Нейродегенеративные заболевания: фундаментальные и прикладные аспекты / под ред. М. В. Угрюмова. — М. : Наука, 2010. — 448 с.
 13. Нейропротективные эффекты ноотропного дипептида ГВС-111 при кислородно-глюкозной депривации, глутаматной токсичности и оксидативном стрессе *in vitro* / Н. А. Андреева [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2000. — Т. 130, № 10. — С. 418–421.
 14. О таргетных белках, участвующих в осуществлении нейропротекторных эффектов цитрата лития / И. Ю. Торшин, О. А. Громова, Л. А. Майорова, А. Ю. Волков // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. — 2017. — Т. 9, № 1. — С. 78–83.
 15. Парфенов, В. А. Когнитивные расстройства / В. А. Парфенов, В. В. Захаров, И. С. Преображенская. — М. : Ремедиум, 2014. — 192 с.
 16. Ребров, В. Г. Витамины, макро- и микроэлементы / В. Г. Ребров, О. А. Громова. — М. : Геотар-Мед, 2008.
 17. Скворцова, В. И. Снижение заболеваемости, смертности и инвалидности от инсультов в Российской Федерации / В. И. Скворцова. — М. : Литера, 2007. — 192 с.
 18. Спиричев, В. Б. Витамины, витаминоподобные и минеральные вещества. — М. : МЦФЭР, 2004. — 240 с.

19. Стельмашук, Е. В. Влияние глутамина на гибель культивированных зернистых нейронов, индуцированную глюкозной депривацией и химической гипоксией / Е. В. Стельмашук, С. В. Новикова, Н. К. Исаев // Биохимия. — 2010. — Т. 75, № 8. — С. 1150–1156.
20. Тимирханова, Г. А. Витамин С: классические представления и новые факты о механизмах биологического действия / Г. А. Тимирханова, Г. М. Абдуллина, И. Г. Кулагина // Вятский медицинский вестн. — 2007. — № 4. — С. 158–161.
21. Федорова, Н. В. Депрессия, апатия и ангедония при болезни Паркинсона: механизмы развития немоторных проявлений и подходы к коррекции / Н. В. Федорова, А. В. Никитина // Нервные болезни. — 2012. — № 3. — С. 31–36.
22. Ших, Е. В. Витамины в клинической практике / Е. В. Ших, А. Махова. — М. : Практ. медицина, 2014. — 368 с.
23. (Met5) Enkephalin content in brain regions of rats treated with lithium / J. C. Gillin, J. S. Hong, H. Y. Yang, E. Costa // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1978. — Vol. 75(6). — P. 2991–2993.
24. ¹³C NMR studies of vitamin C transport and its redox cycling in human erythrocytes / U. Himmelreich, K. N. Drew, A. S. Serianni, P. W. Kuchel // Biochemistry. — 1998. — Vol. 37. — P. 7578–7588.
25. A failure in energy metabolism and antioxidant uptake precede symptoms of huntington's disease in mice / A. I. Acuña [et al.] // Nat. Commun. — 2013. — Vol. 4. — P. 2917–2919.
26. A metabolic switch in brain: Glucose and lactate metabolism modulation by ascorbic acid / M. A. Castro, F. A. Beltrán, S. Brauchi, I. I. Concha // J. Neurochem. — 2009. — Vol. 110. — P. 423–440.
27. A new avenue for lithium: intervention in traumatic brain injury / P. R. Leeds [et al.] // ACS Chem Neurosci. — 2014. — Vol. 5(6). — P. 422–433.
28. A pivotal role of GSK-3 in synaptic plasticity / C. A. Brabley [et al.] // Frontiers in Molecular Neuroscience. — 2012. — Vol. 5. — P. 16–26.

29. A pivotal role of GSK-3 in synaptic plasticity / C. A. Bradley [et al.] // *Front Mol. Neurosci.* — 2012. — Vol. 5. — P. 13.
30. A systematic study of brainstem motor nuclei in a mouse model of ALS, the effects of lithium / M. Ferrucci [et al.] // *Neurobiol Dis.* — 2010. — Vol. 37(2). — P. 370–383.
31. Adiponectin, leptin, and erythrocyte sodium/lithium countertransport activity, but not resistin, are related to glucose metabolism in growth hormone-deficient adults / J. Svensson, H. Herlitz, P. A. Lundberg, G. Johannsson // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2005. — Vol. 90(4). — P. 2290–2296.
32. Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour / J. S. Snyder [et al.] // *Nature.* — 2011. — Vol. 476(7361). — P. 458–461.
33. Aghdam, S. Y. Glycogen synthase kinase-3 in neurodegeneration and neuroprotection: lessons from lithium / S. Y. Aghdam, S. W. Barger // *Curr. Alzheimer Res.* — 2007. — Vol. 4(1). — P. 21–31.
34. Alpha-Synuclein contributes to GSK-3beta-catalyzed tau phosphorylation in Parkinson's disease models / T. Duka, V. Duka, J. N. Joyce, A. Sidhu // *FASEB J.* — 2009. — Vol. 23(9). — P. 2820–2830.
35. Alzheimer's Association. 2017 Alzheimer's Disease Facts and Figures // *Alzheimers Dement.* — 2017. — Vol. 13. — P. 325–373.
36. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2017 / J. Cummings [et al.] // *Alzheimers Dement (N. Y.)*. — 2017. — May 24; 3(3). — P. 367–384.
37. An experimental study and computer simulation of the turnover of choline in erythrocytes of patients treated with lithium carbonate / G. R. Beilharz [et al.] // *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* — 1986. — Vol. 64 (Pt 3). — P. 271–289.
38. Antihypertensive therapy in patients on chronic lithium treatment for bipolar disorders / V. Bisogni [et al.] // *J. Hypertens.* — 2016. — Vol. 34(1). — P. 20–28.
39. Antioxidant and B vitamin intake in relation to cognitive function in later life in the Lothian birth cohort 1936 / G. McNeill [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr.* — 2011. — Vol. 65(5). — P. 619–626.

40. Antioxidant intake and cognitive function of elderly men and women: the Cache County Study / H. J. Wengreen [et al.] // *J. Nutr. Health Aging*. — 2007. — Vol. 11. — P. 230–237.
41. Appleby, B. S. Psychotropic medications and the treatment of human prion diseases / B. S. Appleby // *CNS Neurol Disord Drug Targets*. — 2009. — Vol. 8. — P. 353–362.
42. Aral, H. Toxicity of lithium to humans and the environment — a literature review / H. Aral, A. Vecchio-Sadus // *Ecotoxicol Environ Saf.* — 2008. — Jul; 70(3). — P. 349–356.
43. Ascorbate transport by primary cultured neurons and its role in neuronal function and protection against excitotoxicity / S. Qiu, L. Li, E. J. Weeber, J. M. May // *J. Neurosci. Res.* — 2007. — Vol. 85. — P. 1046–1056.
44. Association of glycogen synthase kinase-3 β with Parkinson's disease (review) / D. W. Li [et al.] // *Mol. Med. Rep.* — 2014. — Vol. 9(6). — P. 2043–2050.
45. Beaulieu, J. M. Akt/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs / J. M. Beaulieu, R. R. Gainetdinov, M. G. Caron // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* — 2009. — Vol. 49. — P. 327–347.
46. Berridge, M. J. Neural and developmental actions of lithium: a unifying hypothesis / M. J. Berridge, C. P. Downes, M. R. Hanley // *Cell*. — 1989. — Vol. 59. — P. 411–419.
47. Beurel, E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): Regulation, actions, and diseases / E. Beurel, S. F. Grieco, R. S. Jope // *Pharmacol Ther.* 2015. — Vol. 148. — P. 114–131.
48. Beurel, E. Innate and adaptive immune responses regulated by glycogen synthase kinase-3 (GSK3) / E. Beurel, S. M. Michalek, R. S. Jope // *Trends Immunol.* — 2010. — Vol. 31(1). — P. 24–31.
49. BH3-only proteins and BH3 mimetics induce autophagy by competitively disrupting the interaction between Beclin 1 and Bcl-2/Bcl-X(L) / M. C. Maiuri [et al.] // *Autophagy*. — 2007. — Vol. 3(4). — P. 374–376.

50. Brain-derived neurotrophic factor plasma levels in patients suffering from post-traumatic stress disorder / L. Dell'Osso [et al.] // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. — 2009. — Vol. 33(5). — P. 899–902.
51. Cade, J. F. John Frederick Joseph Cade: family memories on the occasion of the 50th anniversary of his discovery of the use of lithium in mania / J. F. Cade // *Aust N Z J Psychiatry*. — 1999. — Vol. 33. — P. 615–618.
52. Chalecka-Franaszek, E. Lithium activates the serine/threonine kinase Akt-1 and suppresses glutamate-induced inhibition of Akt-1 activity in neurons / E. Chalecka-Franaszek, D. M. Chuang // *J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1999. — Vol. 96(15). — P. 8745–8750.
53. Chen, R. W. Long term lithium treatment suppresses p53 and Bax expression but increases Bcl-2 expression. A prominent role in neuroprotection against excitotoxicity / R. W. Chen, D. M. Chuang // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274(10). — P. 6039–6042.
54. Cholesterol and lithium levels were correlated but serum HDL and total cholesterol levels were not associated with current mood state in bipolar patients / C. Diaz-Sastre [et al.] // *J. Clin. Psychiatry*. — 2005. — Vol. 66(3). — P. 399–400.
55. Chronic lithium administration attenuates up-regulated brain arachidonic acid metabolism in a rat model of neuroinflammation / M. Basselin [et al.] // *J. Neurochem.* — 2007. — Vol. 102(3). — P. 761–772.
56. Chronic lithium administration to rats selectively modifies 5-HT_{2A/2C} receptor-mediated brain signaling via arachidonic acid / M. Basselin [et al.] // *Neuropsychopharmacol.* — 2005. — Vol. 30(3). — P. 461–472.
57. Chronic lithium chloride administration attenuates brain NMDA receptor-initiated signaling via arachidonic acid in unanesthetized rats / M. Basselin, L. Chang, J. M. Bell, S. I. Rapoport // *Neuropsychopharmacol.* — 2006. — Vol. 31(8). — P. 1659–1674.

58. Chronic lithium treatment increases the expression of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain / T. Fukumoto [et al.] // *Psychopharmacology*. — 2001. — Vol. 158(1). — P. 100–106.
59. Chronic treatment with a low dose of lithium protects the brain against ischemic injury by reducing apoptotic death / J. Xu [et al.] // *Stroke*. — 2003. — Vol. 34(5). — P. 1287–1292.
60. Chuang, D. M. GSK-3 as a target for lithium-induced neuroprotection against excitotoxicity in neuronal cultures and animal models of ischemic stroke / D. M. Chuang, Z. Wang, C. T. Chiu // *Front Mol Neurosci*. — 2011. — Vol. 4. — P. 15.
61. Chuang, D. M. Potential use of lithium in neurodegenerative disorders / D. M. Chuang, J. Priller // *Lithium in Neuropsychiatry: The Comprehensive Guide* / ed. by M. Bauer, P. Grof, B. Muller-Oerlinghausen. — Abingdon, Oxon : Informa UK Ltd, 2006. — P. 381–398.
62. Combined lithium and valproate treatment delays disease onset, reduces neurological deficits and prolongs survival in an amyotrophic lateral sclerosis mouse model / H. L. Feng [et al.] // *Neuroscience*. — 2008. — Vol. 155(3). — P. 567–572.
63. Common effects of lithium and valproate on mitochondrial functions: protection against methamphetamine-induced mitochondrial damage / R. F. Bachmann [et al.] // *Int. J. Neuropsychopharmacol*. — 2009. — Vol. 12(6). — P. 805–822.
64. Concurrent administration of Neu2000 and lithium produces marked improvement of motor neuron survival, motor function, and mortality in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis / J. H. Shin [et al.] // *Mol. Pharmacol*. — 2007. — Vol. 71(4). — P. 965–975.
65. Corticostriatal dysfunction underlies diminished striatal ascorbate release in the R6/2 mouse model of huntington's disease / J. L. Dorner [et al.] // *Brain Res*. — 2009. — Vol. 1290. — P. 111–120.

66. Cross-sectional and longitudinal relationship of sodium-lithium countertransport to insulin, obesity and blood pressure in healthy perimenopausal women / C. H. Bunker [et al.] // *J. Hum Hypertens.* — 1991. — Vol. 5(5). — P. 381–392.
67. Curran, G. Lithium for bipolar disorder: A review of the recent literature / G. Curran, A. Ravindran // *Expert Rev. Neurother.* — 2014. — Vol. 14. — P. 1079–1098.
68. De Munter, J. P. J. M. Stem cell grafting in parkinsonism — Why, how and when / J. P. J. M. De Munter, E. Melamed, E. C. Wolters // *Parkinsonism and Related Disorders.* — 2014. — Vol. 20S1. — P. 150–153.
69. Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode / R. Machado-Vieira [et al.] // *Biol. Psychiatry.* — 2007. — Vol. 61(2). — P. 142–144.
70. Decreased plasma levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) during mixed episodes of bipolar disorder / A. Piccinni [et al.] // *J. Affect Disord.* — 2015. — Vol. 171. — P. 167–170.
71. Dementia prevention, intervention, and care / G. Livingston [et al.] // *Lancet.* — 2017. — Jul 19. — P. 0140–6736(17).
72. Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease / M. J. Engelhart [et al.] // *J. Am. Med. Assoc.* — 2002. — Vol. 287(24). — P. 3223–3229.
73. Differential effect of lithium on cell number in the hippocampus and prefrontal cortex in adult mice: A stereological study / G. Rajkowska [et al.] // *Bipolar Disord.* — 2016. — Vol. 18. — P. 41–51.
74. Diniz, B. S. Lithium and neuroprotection: translational evidence and implications for the treatment of neuropsychiatric disorders / B. S. Diniz, R. Machado-Vieira, O. V. Forlenza // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* — 2013. — Vol. 9. — P. 493–500.
75. Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation via modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling / Y. Mao [et al.] // *Cell.* — 2009. — Vol. 136(6). — P. 1017–1031.
76. Doble, B. W. GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase / B. W. Doble, J. R. Woodgett // *J. Cell. Sci.* — 2003. — Vol. 116(7). — P. 1175–1186.

77. Dwivedi, T. Lithium-induced neuroprotection is associated with epigenetic modification of specific BDNF gene promoter and altered expression of apoptotic-regulatory proteins / T. Dwivedi, H. Zhang // *Front Neurosci.* — 2015. — Vol. 8. — P. 457.
78. Dynamics of hippocampal acetylcholine release during lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in rats / M. H. Hillert [et al.] // *J. Neurochem.* — 2014. — Vol. 131(1). — P. 42–52.
79. Dyskinesia in Parkinson's disease: mechanisms and current non-pharmacological interventions / R. Heumann [et al.] // *J. Neurochem.* — 2014. — Vol. 130(4). — P. 472–489.
80. Early effects of mood stabilizers on the Akt/GSK-3 β signaling pathway and on cell survival and proliferation / J. M. Aubry, M. Schwald, E. Ballmann, F. Karege // *Psychopharmacology (Berl.)*. — 2009. — Vol. 205(3). — P. 419–429.
81. Effectiveness of maintenance therapy of lithium vs other mood stabilizers in monotherapy and in combinations: A systematic review of evidence from observational studies / L. V. Kessing [et al.] // *Bipolar Disorders.* — 2018. — Vol. 20. — P. 419–431.
82. Effects of lipids in patients with familial hypercholesterolaemia on the kinetics of the sodium-lithium countertransporter / A. S. Wierzbicki [et al.] // *J. Hum. Hypertens.* — 2000. — Vol. 14(9). — P. 561–565.
83. Effects of lithium on brain glucose metabolism in healthy men / T. Kohno [et al.] // *J. Clin. Psychopharmacol.* — 2007. — Vol. 27(6). — P. 698–702.
84. Effects of lithium on oxidative stress and behavioral alterations induced by lisdexamfetamine dimesylate: Relevance as an animal model of mania / D. S. Macedo [et al.] // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* — 2013. — Vol. 43. — P. 230–237.
85. Effects of lithium on peripheral neuropathy induced by vincristine in rats / H. Alimoradi [et al.] // *Acta Med. Iran.* — 2012. — Vol. 50(6). — P. 373–379.
86. Effects of lithium on the activities of phosphofructokinase and phosphoglucomutase and on glucose-1,6-diphosphate levels in rat muscles, brain

- and liver / J. Nordenberg [et al.] / *Biochem. Pharmacol.* 1982 — Vol. 31(6). — P. 1025–1031.
87. Ellis, J. Chronic lithium treatment prevents atropine-induced supersensitivity of the muscarinic phosphoinositide response in rat hippocampus / J. Ellis, R. H. Lennox // *Biol. Psychiatry.* 1990. — Vol. 28(7). — P. 609–619.
 88. Emamghoreishi, M. Acute and chronic effects of lithium on BDNF and GDNF mRNA and protein levels in rat primary neuronal, astroglial and neuroastroglia cultures / M. Emamghoreishi, M. Keshavarz, A. A. Nekooeian // *Iran. J. Basic Med. Sci.* — 2015. — Vol. 18. — P. 240–246.
 89. Enhanced tau phosphorylation in the hippocampus of mice treated with 3,4-methylenedioxymethamphetamine / C. L. Busceti [et al.] // *J. Neurosci.* — 2008. — Vol. 28. — P. 3234–3245.
 90. Erythrocyte sodium-lithium counter transport activity is inversely correlated to adiponectin, retinol binding protein 4 and body height / E. Elias [et al.] // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* — 2010. — Vol. 70(7). — P. 487–491.
 91. Erythrocyte sodium-lithium countertransport in insulin-dependent diabetics: correlation with membrane lipids, prorenin and micro-albuminuria / P. Lijnen [et al.] // *J. Hypertens Suppl.* — 1993. — Vol. 11(5). — P. 258–259.
 92. Evidence for selective microRNAs and their effectors as common long-term targets for the actions of mood stabilizers / R. Zhou [et al.] // *Neuropsychopharmacology.* — 2009. — Vol. 34(6). — P. 1395–1405.
 93. Evidence that lithium protects against tardive dyskinesia: the Curacao Extrapyramidal syndromes study VI / P. N. van Harten, H. W. Hoek, G. E. Matroos, van O. J. // *Eur. Neuropsychopharmacol.* — 2008. — Vol. 18. — P. 152–155.
 94. FDG-PET study in pathological gamblers. Lithium increases orbitofrontal, dorso-lateral and cingulate metabolism / E. Hollander [et al.] // *Neuropsychobiology.* — 2008. — Vol. 58(1). — P. 37–47.
 95. Ferreira, A. J. M. *MATLAB Codes for Finite Element Analysis.* Springer [Electronic resource] / A. J. M Ferreira. — URL: <http://www.mathworks.com/products/simbiology/>

96. Fontela, T. Role of adrenoceptors *in vitro* and *in vivo* in the effects of lithium on blood glucose levels and insulin secretion in the rat / T. Fontela, O. Garcia Hermida, J. Gomez-Acebo // Br. J. Pharmacol. — 1990. — Vol. 100(2). — P. 283–288.
97. Forlenza, O. V. Neuroprotective Effects of Lithium: Implications for the Treatment of Alzheimer's Disease and Related Neurodegenerative Disorders / O. V. Forlenza, V. J. De-Paula, B. S. Diniz. — ACS Chem. Neurosci, 2014.
98. Fruit and Vegetable Intake and Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Japan / K. Okamoto [et al.] // Neuroepidemiology. — 2009. — Vol. 32(4). — P. 251–256.
99. Functional MRI of delayed chronic lithium treatment in rat focal cerebral ischemia / Y. R. Kim [et al.] // Stroke. — 2008. — Vol. 39(2). — P. 439–447.
100. Geddes, J. R. Treatment of bipolar disorder / J. R. Geddes, D. J. Miklowitz // Lancet. — 2013. — Vol. 381. — P. 1672–1682.
101. Genetics of Alzheimer disease / M. L. Bekris [et al.] // J. Geriatr. Psychiatry Neurol. — 2010. — Vol. 23. — P. 213–227.
102. Ghasemzadeh, B. Dynamic changes in extracellular fluid ascorbic acid monitored by *in vivo* electrochemistry / B. Ghasemzadeh, J. Cammack, R. N. Adams // Brain Res. — 1991. — Vol. 547. — P. 162–166.
103. Glycogen synthase kinase-3 inhibitors: rescuers of cognitive impairments / M. K. King [et al.] // Pharmacol. Ther. — 2014. — Vol. 141(1). — P. 1–12.
104. Glycogen synthase kinase-3beta inhibitors prevent cellular polyglutamine toxicity caused by the Huntington's disease mutation / J. Carmichael, K. L. Sugars, Y. P. Bao, D. C. Rubinsztein // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277(37). — P. 33791–33798.
105. Goodwin, F. K. Manic-Depressive Illness: Bipolar and Recurrent Unipolar Disorders / F. K. Goodwin, K. R. Jamison. — 2th ed. — New York : Oxford University Press, 2007.
106. Gordon, P. H. Amyotrophic lateral sclerosis: pathophysiology, diagnosis and management / P. H. Gordon // CNS Drugs. — 2011. — Vol. 25(1). — P. 1–15.

107. Gould, T. D. *In vivo* evidence in the brain for lithium inhibition of glycogen synthase kinase-3 / T. D. Gould, G. Chen, H. K. Manji // *Neuropsychopharmacology*. — 2004. — Vol. 29(1). — P. 32–38.
108. Greasley, P. J. Bovine inositol monophosphatase. Studies on the binding interactions with magnesium, lithium and phosphate ions / P. J. Greasley, M. G. Gore // *FEBS Lett.* — 1993. — Vol. 331(1–2). — P. 114–118.
109. Grimes, C. A. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3 β in cellular signaling / C. A. Grimes, R. S. Jope // *Prog Neurobiol.* — 2001. — Vol. 65(4). — P. 391–426.
110. GSK-3 α regulates production of Alzheimer's disease amyloid- β peptides / C. J. Phiel, C. A. Wilson, V. M. Lee, P. S. Klein // *Nature*. — 2003. — Vol. 423(6938). — P. 435–439.
111. Hallcher, L. M. The effects of lithium ion and other agents on the activity of myo-inositol-1-phosphatase from bovine brain / L. M. Hallcher, W. R. Sherman // *J. Biol. Chem.* — 1980. — Vol. 255. — P. 10896–10901.
112. Han, J.-Y. Primary prevention of Alzheimer's disease: Is it an attainable goal / J.-Y. Han, S.-H. Han // *J. Korean Med. Sci.* — 2014. — Vol. 29. — P. 886–892.
113. Hellweg, R. Baumgartner A. Subchronic treatment with lithium increases nerve growth factor content in distinct brain regions of adult rats / R. Hellweg, U. E. Lang, M. Nagel // *Mol. Psychiatry*. — 2002. — Vol. 7(6). — P. 604–608.
114. Hickey, M. A. Apoptosis in Huntington's disease / M. A. Hickey, M. F. Chesselet // *J. Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry*. — 2003. — Vol. 27(2). — P. 255–265.
115. High fruit and vegetable intake is positively correlated with antioxidant status and cognitive performance in healthy subjects / M. C. Polidori [et al.] // *J. of Alzheimer's disease*. — 2009. — Vol. 17. — P. 921–927.
116. Hooper, C. The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease / C. Hooper, R. Killick, S. Lovestone // *J. Neurochem.* — 2008. — Vol. 104(6). — P. 1433–1439.

117. Hypoxia activates glycogen synthase kinase-3 in mouse brain *in vivo*: protection by mood stabilizers and imipramine / M. S. Roh [et al.] // *J. Biol. Psychiatry*. — 2005. — Vol. 57(3). — P. 278–286.
118. *In vitro* effects of lithium chloride on TNF alpha and IL-6 production by monocytes from breast cancer patients / A. Arena [et al.] // *J. Chemother.* — 1997. — Vol. 9(3). — P. 219–226.
119. Inactivation of glycogen synthase kinase 3 promotes axonal growth and recovery in the CNS / J. Dill, H. Wang, F. Zhou, S. Li // *J. Neurosci.* — 2008. — Vol. 28. — P. 8914–8928.
120. Increased bcl-2 protein levels in rat primary astrocyte culture following chronic lithium treatment / M. Keshavarz [et al.] // *Iran. J. Med. Sci.* — 2013. — Vol. 38. — P. 255–262.
121. Increased BMP6 levels in the brains of Alzheimer's disease patients and APP transgenic mice are accompanied by impaired neurogenesis / L. Crews [et al.] // *J. Neurosci.* — 2010. — Vol. 30(37). — P. 12252–12262.
122. Inestrosa, N. C. Wnt signaling in the nervous system and in Alzheimer's disease / N. C. Inestrosa, L. Varela-Nallar // *J. Mol. Cell. Biol.* — 2014. — Vol. 6(1). — P. 64–74.
123. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration *in vivo* / W. Noble [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 2005. — Vol. 102(19). — P. 6990–6995.
124. Inhibition of GSK-3 reduces infarct volume and improves neurobehavioral functions / S. H. Koh [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* — 2008. — Vol. 371(4). — P. 894–899.
125. Inositol-deficient food augments a behavioral effect of long-term lithium treatment mediated by inositol monophosphatase inhibition: an animal model with relevance for bipolar disorder / L. Shtein, G. Agam, R. H. Belmaker, Y. Bersudsky // *J. Clin. Psychopharmacol.* — 2015. — Apr, 35(2). — P. 175–177.

126. Insulin resistance is associated with high sodium–lithium countertransport in essential hypertension / A. Doria [et al.] // *Am. J. Physiol.* — 1991. — Vol. 261 (6 Pt 1). — P. 684–691.
127. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) expression is up-regulated in lymphoblastoid cell lines of lithium responsive bipolar disorder patients / A. Squassina [et al.] // *Pharmacol Res.* — 2013. — Vol. 73. — P. 1–7.
128. Intakes of vitamin C and carotenoids and risk of amyotrophic lateral sclerosis: Pooled results from 5 cohort studies / K. C. Fitzgerald [et al.] // *Ann Neurol.* — 2013. — Vol. 73. — P. 236–245.
129. Is lithium a neuroprotective agent? / T. M. Vo, P. Perry, M. Ellerby, K. Bohnert // *Ann. Clin. Psychiatry.* — 2015. — Vol. 27(1). — P. 49–54.
130. Ishikawa, T. Molecular cloning and functional expression of rat liver glutathione–dependent dehydroascorbate reductase / T. Ishikawa, A. F. Casini, M. Nishikimi // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273. — P. 28708–28712.
131. Joffe, R. T. Hematological effects of lithium potentiation of carbamazepine in patients with affective illness / R. T. Joffe // *Int. Clin. Psychopharmacol.* — 1988. — Vol. 3(1). — P. 53–57.
132. Jope, R. S. Lithium and GSK-3: one inhibitor, two inhibitory actions, multiple outcomes / R. S. Jope // *Trends. Biochem. Sci.* — 2003. — Vol. 24(9). — P. 441–443.
133. Kaidanovich, O. The role of glycogen synthase kinase-3 in insulin resistance and type 2 diabetes / O. Kaidanovich, H. Eldar-Finkelman // *Expert Opin. Ther. Targets.* — 2002. — Vol. 6(5). — P. 555–561.
134. Kalinichev, M. Evidence for antimanic efficacy of glycogen synthase kinase-3 (GSK3) inhibitors in a strain-specific model of acute mania / M. Kalinichev, L. A. Dawson // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* — 2011. — Vol. 14(8). — P. 1051–1067.
135. Kessing, L. V. Does lithium protect against dementia? / L. V. Kessing, J. L. Forman, P. K. Andersen // *Bipolar Disord.* — 2010. — Vol. 12(1). — P. 87–94.

136. Lenalidomide (revlimid) administration at symptom onset is neuroprotective in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis / A. Neymotin [et al.] // *Exp. Neurol.* — 2009. — Vol. 220. — P. 191–197.
137. Lerer, B. Does lithium stabilize muscarinic receptors? / B. Lerer, M. Stanley // *Biol. Psychiatry.* — 1985. — Vol. 20(11). — P. 1247–1250.
138. Levine, M. Analysis of ascorbic acid and dehydro-ascorbic acid in biological samples / M. Levine, Y. Wang, S. C. Rumsey // *Methods Enzymol.* — 1999. — Vol. 299. — P. 65–76.
139. Li, X. Glycogen synthase kinase-3 β , mood stabilizers, and neuroprotection / X. Li, N. G. Bijur, R. S. Jope // *Bipolar Disorder.* — 2002. — Vol. 4, № 2. — P. 137–144.
140. LiCl attenuates thapsigargin-induced tau hyper phosphorylation by inhibiting GSK-3 β *in vivo* and *in vitro* / Z. Q. Fu [et al.] // *J. Alzheimer's Dis.* — 2010. — Vol. 21(4). — P. 1107–1117.
141. Lithium — pharmacological and toxicological aspects: the current state of the art / B. Medić [et al.] // *Curr. Med. Chem.* — 2018. — Sep. 4.
142. Lithium and hematology: established and proposed uses / D. Focosi [et al.] // *J. Leukoc Biol.* — 2009. — Vol. 85(1). — P. 20–28.
143. Lithium and oxidative stress lessons from the MPTP model of Parkinson's disease / Z. Arraf, T. Amit, M. B. Youdim, R. Farah // *Neurosci Lett.* — 2012. — Vol. 516(1). — P. 57–61.
144. Lithium chloride disrupts consolidation of morphine-induced conditioned place preference in male mice: the nitric oxide/cyclic GMP signaling pathway / A. Kiyani [et al.] // *Behav. Brain Res.* — 2011. — Vol. 219(2). — P. 240–247.
145. Lithium chloride promotes host resistance against *Pseudomonas aeruginosa* keratitis / K. Chen [et al.] // *Mol. Vis.* — 2013. — Vol. 19. — P. 1502–1514.
146. Lithium chloride reinforces the regeneration-promoting effect of chondroitinase ABC on rubrospinal neurons after spinal cord injury / L. W. Yick, K. F. So, P. T. Cheung, W. T. Wu // *J. Neurotrauma.* — 2004. — Vol. 21. — P. 932–943.

147. Lithium citrate as treatment of Canavan disease / M. D. Solsona, L. L. Fernández, E. M. Boquet, J. L. Andrés // *Clin. Neuropharmacol.* — 2012. — Vol. 35(3). — P. 150–151.
148. Lithium citrate reduces excessive intra-cerebral N-acetyl aspartate in Canavan disease / M. Assadi [et al.] // *Eur. J. Paediatr Neurol.* — 2010. — Vol. 14(4). — P. 354–359.
149. Lithium decreases secretion of A β 1-42 and C-truncated species A β 1-37/38/39/40 in chicken telencephalic cultures but specifically increases intracellular A β 1-38 / H. Esselmann [et al.] // *Neurodegener Dis.* — 2004. — Vol. 1(4–5) — P. 236–241.
150. Lithium delays progression of amyotrophic lateral sclerosis / F. Fornai [et al.] // *Proc Natl Acad. Sci. USA.* — 2008. — Vol. 105(6). — P. 2052–2057.
151. Lithium enhances the neuronal differentiation of neural progenitor cells *in vitro* and after transplantation into the avulsed ventral horn of adult rats through the secretion of brain-derived neurotrophic factor / H. Su [et al.] // *J. Neurochem.* — 2009. — Vol. 108. — P. 1385–1398.
152. Lithium increases nerve growth factor levels in the rat hippocampus in an animal model of mania / B. N. Frey [et al.] // *Behav. Pharmacol.* — 2006. — Vol. 17(4). — P. 311–318.
153. Lithium increases plasma brain-derived neurotrophic factor in acute bipolar mania: a preliminary 4-week study / R. T. De Sousa [et al.] // *Neurosci Lett.* — 2011. — Vol. 494(1). — P. 54–56.
154. Lithium increases platelet serine-9 phosphorylated GSK-3 β levels in drug-free bipolar disorder during depressive episodes / R. T. De Sousa [et al.] // *J. Psychiatr. Res.* — 2015. — Vol. 62. — P. 78–83.
155. Lithium induces brain-derived neurotrophic factor and activates TrkB in rodent cortical neurons: an essential step for neuroprotection against glutamate excitotoxicity / R. Hashimoto [et al.] // *Neuropharmacology.* — 2002. — Vol. 43(7). — P. 1173–1179.

156. Lithium induces clearance of protease resistant prion protein in prion-infected cells by induction of autophagy / A. Heiseke [et al.] // *J. Neurochem.* — 2009. — Vol. 109. — P. 25–34.
157. Lithium inhibits hepatic gluconeogenesis and phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression / F. Bosch [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 1992. — Vol. 267(5). — P. 2888–2893.
158. Lithium intoxication: Incidence, clinical course and renal function — a population-based retrospective cohort study / M. Ott, B. Stegmayr, E. Salander Renberg, U. Werneke // *J Psychopharmacol.* — 2016. — Oct, 30(10). — P. 1008–1019.
159. Lithium modifies brain arachidonic and docosahexaenoic metabolism in rat lipopolysaccharide model of neuroinflammation / M. Basselin [et al.] // *J. Lipid. Res.* — 2010. — Vol. 51(5). — P. 1049–1056.
160. Lithium posttreatment confers neuroprotection through glycogen synthase kinase-3beta inhibition in intracerebral hemorrhage rats / J. Zheng [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2016. — Oct 14. — P. 1–9.
161. Lithium prevents and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis / P. De Sarno [et al.] // *J. Immunol.* — 2008. — Vol. 181(1). — P. 338–345.
162. Lithium prevents cell apoptosis through autophagy induction / H. Kazemi, A. Noori-Zadeh, S. Darabi, F. Rajaei // *Bratisl. Lek Listy.* — 2018. — Vol. 119(4). — P. 234–239.
163. Lithium prevents early cytosolic calcium increase and secondary injurious calcium overload in glycolytically inhibited endothelial cells / B. Bosche [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* — 2013. — Vol. 434(2). — P. 268–272.
164. Lithium prevents stress-induced reduction of vascular endothelium growth factor levels / R. Silva [et al.] // *Neurosci Lett.* — 2007. — Vol. 429(1). — P. 33–38.
165. Lithium protection against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons: involvement of NMDA receptor inhibition possibly by decreasing NR2B tyrosine phosphorylation / R. Hashimoto [et al.] // *J. Neurochem.* — 2002. — Vol. 80(4). — P. 589–597.

166. Lithium reduces Gsk3b mRNA levels: implications for Alzheimer's Disease / C. T. Mendes [et al.] // J. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. — 2009. — Vol. 259(1). — P. 16–22.
167. Lithium reduces ischemia-induced hippocampal CA1 damage and behavioral deficits in gerbils / Q. Bian [et al.] // J. Brain. Res. — 2007. — Vol. 1184. — P. 270–276.
168. Lithium reduces tau phosphorylation: effects in living cells and in neurons at therapeutic concentrations / S. Lovestone [et al.] // Biol. Psychiatry. — 1999. — Vol. 45(8). — P. 995–1003.
169. Lithium regulates hippocampal neurogenesis by ERK pathway and facilitates recovery of spatial learning and memory in rats after transient global cerebral ischemia / X. B. Yan [et al.] // Neuropharmacology. — 2007. — Vol. 53(4). — P. 487–495.
170. Lithium restores neurogenesis in the subventricular zone of the Ts65Dn mouse, a model for Down syndrome / P. Bianchi [et al.] // Brain. Pathol. — 2010. — Vol. 20(1). — P. 106–118.
171. Lithium selectively increases neuronal differentiation of hippocampal neural progenitor cells both *in vitro* and *in vivo* / J. S. Kim [et al.] // J. Neurochem. — 2004. — Vol. 89(2). — P. 324–336.
172. Lithium stimulates progenitor proliferation in cultured brain neurons / R. Hashimoto [et al.] // Neuroscience. — 2003. — Vol. 117(1). — P. 55–61.
173. Lithium suppresses excitotoxicity-induced striatal lesions in a rat model of Huntington's disease / H. Wei [et al.] // Neuroscience. — 2001. — Vol. 106(3). — P. 603–612.
174. Lithium therapy improves neurological function and hippocampal dendritic arborization in a spinocerebellar ataxia type 1 mouse model / K. Watase [et al.] // PLoS Med. — 2007. — Vol. 4(5). — P. 182.
175. Lithium treatment alters brain concentrations of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor in a rat

- model of depression / F. Angelucci, L. Aloe, P. Jimenez-Vasquez, A. A. Mathe // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* — 2003. — Vol. 6. — P. 225–231.
176. Lithium treatment and risk of dementia / L. V. Kessing, L. Sondergard, J. L. Forman, P. K. Andersen // *Arch. Gen. Psychiatry.* — 2008. — Vol. 65(11). — P. 1331–1335.
177. Lithium treatment attenuates muscarinic M(1) receptor dysfunction / T. K. Creson [et al.] // *Bipolar Disord.* — 2011. — Vol. 13(3). — P. 238–249.
178. Lithium treatment decreases blood pressure in genetically hypertensive rats / L. Y. Koda, W. J. Shoemaker, G. Baetge, F. E. Bloom // *Eur. J. Pharmacol.* — 1981. — Vol. 76(4). — P. 411–415.
179. Lithium upregulates vascular endothelial growth factor in brain endothelial cells and astrocytes / S. Guo [et al.] // *Stroke.* — 2009. — Vol. 40(2). — P. 652–655.
180. Lithium, but not valproate, induces the serine/threonine phosphatase activity of protein phosphatase 2A in the rat brain, without affecting its expression / S. Tsuji, [et al.] // *J. Neural. Transm (Vienna).* — 2003. — Vol. 110.
181. Lithium, valproate, and carbamazepine prescribing patterns for long-term treatment of bipolar I and II disorders: A prospective study / L. Musetti [et al.] // *Hum. Psychopharmacol.* — 2018. — Nov. 33(6). — P. 2676.
182. Lithium: potential therapeutics against acute brain injuries and chronic neurodegenerative diseases / A. Wada, H. Yokoo, T. Yanagita, H. Kobayashi // *J. Pharmacol. Sci.* — 2005. — Vol. 99(4). — P. 307–321.
183. Lithium-mediated long-term neuroprotection in neonatal rat hypoxia-ischemia is associated with antiinflammatory effects and enhanced proliferation and survival of neural stem/progenitor cells / H. Li [et al.] // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* — 2011. — Vol. 31(10). — P. 2106–2115.
184. Low proliferation and differentiation capacities of adult hippocampal stem cells correlate with memory dysfunction in humans / R. Coras [et al.] // *Brain.* — 2010. — Vol. 133(11). — P. 3359–3372.
185. Lymphocyte vitamin C levels as potential biomarker for progression of Parkinson's disease / K. Ide [et al.] // *Nutrition.* — 2015. — Vol. 31(2). — P. 406–408.

186. Ma, J. Lithium reduced N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2A tyrosine phosphorylation and its interactions with Src and Fyn mediated by PSD-95 in rat hippocampus following cerebral ischemia / J. Ma, G. Y. Zhang // *Neurosci Lett.* — 2003. — Vol. 348(3). — P. 185–189.
187. Malhi, G. S. Therapeutic mechanisms of lithium in Bipolar Disorder: Recent advances and current understanding / G. S. Malhi, T. Outhred // *CNS Drugs.* — 2016. — Vol. 30. — P. 931–949.
188. Manji, H. K. Lithium up-regulates the cytoprotective protein Bcl-2 in the CNS *in vivo*: a role for neurotrophic and neuroprotective effects in manic depressive illness / H. K. Manji, G. J. Moore, G. Chen // *J. Clin. Psychiatry.* — 2000. — Vol. 61 (suppl. 9). — P. 82–96.
189. Manji, H. K. Pkc, map kinases and the bcl-2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers / H. K. Manji, G. Chen // *Mol. Psychiatry.* — 2002. — Vol. 7 (suppl. 1). — P. 46–56.
190. Mauer, S. Standard and trace-dose lithium: a systematic review of dementia prevention and other behavioral benefits / S. Mauer, D. Vergne, S. N. Ghaemi // *Aust N Z J Psychiatry.* — 2014. — Vol. 48(9). — P. 809–818.
191. Meffre, D. Lithium chloride stimulates PLP and MBP expression in oligodendrocytes via Wnt/ β -catenin and Akt/CREB pathways / D. Meffre, C. Massaad, J. Grenier // *Neuroscience.* — 2015. — Vol. 284. — P. 962–971.
192. Modeling bipolar disorder in mice by increasing acetylcholine or dopamine: chronic lithium treats most, but not all features / J. van Enkhuizen, M. Milienne-Petiot, M. A. Geyer, J. W. Young // *Psychopharmacology (Berl).* — 2015. — Vol. 232(18). — P. 3455–67.
193. Molecular effects of lithium are partially mimicked by inositol-monophosphatase (IMPA)1 knockout mice in a brain region-dependent manner / O. Damri [et al.] // *Eur. Neuropsychopharmacol.* — 2015 — Mar; 25(3). — P. 425–34.
194. Mood stabilizers regulate cytoprotective and mRNA-binding proteins in the brain: long-term effects on cell survival and transcript stability / G. Chen, L. D. Huang,

- W. Z. Zeng, H. K. Manji // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* — 2001. — Vol. 4. — P. 47–64.
195. Myint, A. M. Network beyond IDO in psychiatric disorders: Revisiting neurodegeneration hypothesis / A. M. Myint, Y. K. Kim // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* — 2014. — Vol. 48. — P. 304–313.
196. Nahman, S. Effects of lithium on lipopolysaccharide-induced inflammation in rat primary glia cells / S. Nahman, R. H. Belmaker, A. N. Azab // *Innate Immun.* — 2012. — Vol. 18(3). — P. 447–458.
197. Neuroprotective effect and cognitive outcome of chronic lithium on traumatic brain injury in mice / Z. F. Zhu, Q. G. Wang, B. J. Han, C. P. William // *Brain Res Bull.* — 2010. — Vol. 83(5). — P. 272–277.
198. Neuroprotective effects of chronic exposure of SH-SY5Y to low lithium concentration involve glycolysis stimulation, extracellular pyruvate accumulation and resistance to oxidative stress / R. Nciri [et al.] // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* — 2013. — Vol. 16. — P. 365–376.
199. Nonaka, S. Chronic lithium treatment robustly protects neurons in the central nervous system against excitotoxicity by inhibiting N-methyl-D-aspartate receptor-mediated calcium influx / S. Nonaka, C. J. Hough, D. M. Chuang // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 1998. — Vol. 95(5). — P. 2642–2647.
200. Nonaka, S. Neuroprotective effects of chronic lithium on focal cerebral ischemia in rats / S. Nonaka, D. M. Chuang // *J. Neuroreport.* — 1998. — Vol. 9(9). — P. 2081–2084.
201. Non-homogeneous separation of triglycerides, gamma-glutamyltransferase, C-reactive protein and lactate dehydrogenase after centrifugation of lithium-heparin tubes / G. L. Salvagno [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* — 2008. — Vol. 46(8). — P. 1180–1182
202. Nunes, M. A. Microdose lithium treatment stabilized cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease / M. A. Nunes, T. A. Viel, H. S. Buck // *Curr. Alzheimer Res.* — 2013. — Vol. 10(1). — P. 104–107.

203. Off label use of lithium in the treatment of Huntington's disease: a case series / V. Danivas [et al.] // *Indian J. Psychiatry*. — 2013. — Vol. 55(1). — P. 81–83.
204. Oxidative stress in the hippocampus during experimental seizures can be ameliorated with the antioxidant ascorbic acid / I. M. Santos [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* — 2009. — Vol. 2. — P. 214–221.
205. Padh, H. Cellular functions of ascorbic acid / H. Padh // *Biochem. Cell Biol.* — 1990. — Vol. 68. — P. 1166–1173.
206. Peripheral brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia and the role of anti-psychotics: meta-analysis and implications / B. S. Fernandes [et al.] // *Mol. Psychiatry*. — 2015. — Vol. 20(9). — P. 1108–1119.
207. Perrig, W. J. The relation between antioxidants and memory performance in the old and very old / W. J. Perrig, P. Perrig, H. B. Stahelin // *J. Am. Geriatr. Soc.* — 1997. — Vol. 45. — P. 718–724.
208. Peterkofsky, B. Ascorbate requirement for hydroxylation and secretion of procollagen: Relationship to inhibition of collagen synthesis in scurvy / B. Peterkofsky // *Am. J. Clin. Nutr.* — 1991. — Vol. 54. — P. 1135–1140.
209. Pharmacokinetic and pharmacodynamic synergy between neuropeptides and lithium in the implementation of the neurotrophic and neuroprotective effects of Cerebrolysin / O. A. Gromova [et al.] // *J. Neurology and Psychiatry im. S.S. Korsakova*. — 2015. — Vol. 115, № 3. — P. 114.
210. Pharmacological inhibition of GSK3 attenuates DNA damage-induced apoptosis via reduction of p53 mitochondrial translocation and Bax oligomerization in neuroblastoma SH-SY5Y cells / P. Ngok-Ngam, P. Watcharasit, A. Thiantanawat, J. Satayavivad // *Cell. Mol. Biol. Lett.* — 2013. — Vol. 18. — P. 58–74.
211. Phelan, K. M. Lithium interaction with the cyclooxygenase 2 inhibitors rofecoxib and celecoxib and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs / K. M. Phelan, A. D. Mosholder, S. Lu // *J. Clin. Psychiatry*. — 2003. — Vol. 64(11). — P. 1328–1334.

212. Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments / A. Piccinni [et al.] // *J. Affect — Disord.* — 2008. — Vol. 105(1–3). — P. 279–283.
213. Plasma antioxidants are similarly depleted in mild cognitive impairment and in Alzheimer's disease / P. Rinaldi [et al.] // *Neurobiol. Aging.* — 2003. — Vol. 24. — P. 915–919.
214. Post, R. M. Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: clinical and theoretical implications / R. M. Post // *J. Psychiatr. Res.* — 2007. — Vol. 41(12). — P. 979–990.
215. Prevention of paclitaxel-induced peripheral neuropathy by lithium pretreatment. / M. Mo [et al.] // *FASEB J.* — 2012. — Vol. 26(11). — P. 4696–4709.
216. Proton magnetic resonance spectroscopy in Huntington's disease: evidence in favour of the glutamate excitotoxic theory / S. D. Taylor-Robinson [et al.] // *J. Mov. Disord.* — 1996. — Vol. 11(2). — P. 167–173.
217. Protracted lithium treatment protects against the ER stress elicited by thapsigargin in rat PC12 cells: roles of intracellular calcium, GRP78 and Bcl-2 / T. Hiroi [et al.] // *Pharmacogenomics J.* — 2005. — Vol. 5(2). — P. 102–111.
218. Raja, M. Lithium treatment in patients with Huntington disease and suicidal behavior / M. Raja, F. Soleti, A. R. Bentivoglio // *J. Clin. Psychopharmacol.* — 2013. — Vol. 33(6). — P. 819–821.
219. Rapid antidepressive-like activity of specific glycogen synthase kinase-3 inhibitor and its effect on betacatenin in mouse hippocampus / O. Kaidanovich-Beilin [et al.] // *Biol. Psychiatry.* — 2004. — Vol. 55(8). — P. 781–784.
220. Rebec, G. V. A vitamin as neuromodulator: Ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission / G. V. Rebec, R. C. Pierce // *Prog. Neurobiol.* — 1994. — Vol. 43. — P. 537–565.
221. Recovery of erythrocyte Li⁺/Na⁺ countertransport and choline transport from lithium therapy / J. M. Diamond [et al.] // *J. Psychiatr. Res.* — 1982. — Vol. 17(4). — P. 385–393.

222. Red blood cell sodium-lithium countertransport, blood pressure, and uric acid metabolism in untreated healthy men / P. Strazzullo [et al.] // *Am. J. Hypertens.* — 1989. — Vol. 2(8). — P. 634–636.
223. Red cell sodium-lithium countertransport and blood pressure in children with insulin-dependent diabetes mellitus / M. Dobos [et al.] // *Diabetes Res Clin. Pract.* — 1994. — Vol. 26(1). — P. 15–20.
224. Relationships between dietary intake and cognitive function level in Korean elderly people / L. Lee [et al.] // *Public Health.* — 2001. — Vol. 115. — P. 133–138.
225. Role of glycogen synthase kinase-3beta in early depressive behavior induced by mild traumatic brain injury / M. Shapira [et al.] // *Mol. Cell. Neurosci.* — 2007. — Vol. 34(4). — P. 571–577.
226. Role of GSK3 beta in behavioral abnormalities induced by serotonin deficiency / J. M. Beaulieu [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2008. — Vol. 105(4). — P. 1333–1338.
227. Role of GSK3 signaling in neuronal morphogenesis / T. Y. Kim, E. M. Hur, W. D. Snider, F. Q. Zhou // *Frontiers in Molecular Neuroscience.* — 2011. — Vol. 4. — P. 31–39.
228. Role of nitric oxide and prostaglandin systems in lithium modulation of acetylcholine vasodilation / B. Rahimzadeh-Rofouyi [et al.] // *J Cardiovasc. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 50(6). — P. 641–646.
229. Roles of insulin signalling and p38 MAPK in the activation by lithium of glucose transport in insulin-resistant rat skeletal muscle / A. R. Macko, A. N. Beneze, M. K. Teachey, E. J. Henriksen // *Arch. Physiol. Biochem.* — 2008. — Vol. 114(5). — P. 331–339.
230. Rowe, M. K. GSK-3 is a viable potential target for therapeutic intervention in bipolar disorder / M. K. Rowe, C. Wiest, D. M. Chuang // *Neurosci Biobehav. Rev.* — 2007. — Vol. 31(6). — P. 920–931.
231. Rybakowski, J. K. Clinical Perspectives of Lithium's Neuroprotective Effect / J. K. Rybakowski, A. Suwalska, T. Hajek // *Pharmacopsychiatry.* — 2018. — Sep, 51(5). — P. 194–199.

232. Ryves, W. J. Lithium inhibits glycogen synthase kinase-3 by competition for magnesium / W. J. Ryves, A. J. Harwood // *Biochem. Biophys Res. Commun.* — 2001. — Vol. 280(3). — P. 720–725.
233. Shalbuyeva, N. Lithium desensitizes brain mitochondria to calcium, antagonizes permeability transition, and diminishes cytochrome C release / N. Shalbuyeva, T. Brustovetsky, N. Brustovetsky // *J. Biol. Chem.* — 2007. — Vol. 282(25). — P. 18057–18068.
234. Shannon, R. D. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides / R. D. Shannon // *Acta. Cryst.* — 1976. — № 32. — P. 751–767.
235. Short-term lithium treatment promotes neuronal survival and proliferation in rat striatum infused with quinolinic acid, an excitotoxic model of Huntington's disease / V. V. Senatorov [et al.] // *Mol. Psychiatry.* — 2004. — Vol. 9(4). — P. 371–385.
236. Sodium-lithium countertransport: a predictor of diabetic nephropathy in Jewish insulin-dependent diabetes mellitus patients of different ethnic origin? / D. J. van Dijk [et al.] // *Isr. J. Med. Sci.* — 1996. — Vol. 32(2). — P. 105–111.
237. Stengaard-Pedersen, K. *In vitro* and *in vivo* inhibition by lithium of enkephalin binding to opiate receptors in rat brain / K. Stengaard-Pedersen, M. Schou // *Neuropharmacology.* — 1982. — Vol. 21(8). — P. 817–823.
238. Strong, M. J. The syndromes of frontotemporal dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis / M. J. Strong // *Amyotrophic Lateral Scler.* — 2008. — Vol. 9. — P. 323–338.
239. Su, H. Lithium enhances proliferation and neuronal differentiation of neural progenitor cells *in vitro* and after transplantation into the adult rat spinal cord / H. Su, T. H. Chu., W. Wu // *Exp. Neurol.* — 2007. — Vol. 206. — P. 296–307.
240. Support of retinal ganglion cell survival and axon regeneration by lithium through a Bcl-2-dependent mechanism / X. Huang [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* — 2003. — Vol. 44(1). — P. 347–354.

241. Surgical approach and outcomes in patients with lithium-associated hyperparathyroidism / J. L. Marti [et al.] // *Ann. Surg. Oncol.* — 2012. — Vol. 19(11). — P. 3465–3471.
242. The dephosphorylation of inositol 1,4-bisphosphate to inositol in liver and brain involves two distinct Li⁺-sensitive enzymes and proceeds via inositol 4-phosphate / C. I. Ragan [et al.] // *Biochem. J.* — 1988. — Vol. 249. — P. 143–148.
243. The effect of ascorbic acid on the pharmacokinetics of levodopa in elderly patients with Parkinson disease / H. Nagayama [et al.] // *Clin. Neuropharmacol.* — 2004. — Vol. 27. — P. 270–273.
244. The effects of acute and long-term lithium treatments on trkB neurotrophin receptor activation in the mouse hippocampus and anterior cingulate cortex / T. Rantamaki, J. E. Knuutila, M. E. Hokkanen, E. Castren // *Neuropharmacology.* — 2006. — Vol. 50(4). — P. 421–417.
245. The mood stabilizers lithium and valproate selectively activate the promoter IV of brain-derived neurotrophic factor in neurons / S. Yasuda [et al.] // *Mol. Psychiatry.* — 2009. — Vol. 14(1). — P. 51–59.
246. The mood-stabilizing agents lithium and valproate robustly increase the levels of the neuroprotective protein bcl-2 in the CNS / G. Chen [et al.] // *J. Neurochem.* — 1999. — Vol. 72(2). — P. 879–882.
247. The prevalence of lithium-associated hyperparathyroidism in a large Swedish population attending psychiatric outpatient units / A. D. Meehan [et al.] // *J. Clin. Psychopharmacol.* — 2015. — Vol. 35(3). — P. 279–285.
248. The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis / T. Pringsheim [et al.] // *Mov. Disord.* — 2014. — Nov, 29(13). — P. 1583–1590.
249. The role of epigenetics in neurodegenerative diseases / L. Lovrecic, A. Maver, M. Zadel, B. Peterlin // *Chapter.* — 2013. — Vol. 14. — P. 345–364.
250. The role of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in mood modulation / H. Einat [et al.] // *J. Neurosci.* — 2003. — Vol. 23. — P. 7311–7316.

251. Therapeutic benefits of delayed lithium administration in the neonatal rat after cerebral hypoxia-ischemia / C. Xie [et al.] // PLoS One. — 2014. — Vol. 11(9). — P. 0107192.
252. TNF-alpha expression in neutrophils and its regulation by glycogen synthase kinase-3: a potentiating role for lithium / M. S. Giambelluca [et al.] // FASEB J. — 2014. — Vol. 28(8). — P. 3679–3690.
253. Tondo, L. Long-term lithium treatment in the prevention of suicidal behavior in bipolar disorder patients / L. Tondo, R. J. Baldessarini // Epidemiol. Psychiatr. Soc. — 2009. — Vol. 18. — P. 179–183.
254. Torshin, I. Yu. Sensing the change from molecular genetics to personalized medicine / I. Yu. Torshin. — New York : Nova Biomedical Books, 2009.
255. Trace element status of the brain in rats following cerebrolysin administration / A. V. Kudrin [et al.] // Trace Elements and Electrolytes. — 2004. — Vol. 21, № 4. — C. 252–256.
256. Transgenic mice overexpressing glycogen synthase kinase 3beta: a putative model of hyperactivity and mania / J. Prickaerts [et al.] // J. Neurosci. — 2006. — Vol. 26(35). — P. 9022–9029.
257. Translocation of glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β), a trigger of permeability transition, is kinase activity-dependent and mediated by interaction with voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2) / M. Tanno [et al.] // J. Biol. Chem. — 2014. — Vol. 289. — P. 29285–29296.
258. Vetvicka, V. Anti-Stress Action of an Orally-Given Combination of Resveratrol, β -Glucan, and Vitamin C / V. Vetvicka, J. Vetvickova // Molecules. — 2014. — Vol. 19. — P. 13724–13734.
259. Vitamin C protects against ethanol and PTZ-induced apoptotic neurodegeneration in prenatal rat hippocampal neurons / M. I. Naseer [et al.] // Synapse. — 2011. — Vol. 65. — P. 562–571.
260. Voltammetrically monitored brain ascorbate as an index of excitatory amino acid release in the unrestrained rat / R. D. O'Neill, M. Fillenz, L. Sundstrom, J. N. Rawlins // Neurosci Lett. — 1984. — Vol. 52. — P. 227–233.

261. Warner-Schmidt, J. L. VEGF as a potential target for therapeutic intervention in depression / J. L. Warner-Schmidt, R. S. Duman // *Curr. Opin. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 8(1). — P. 14–19.
262. Zawalich, W. S. Interactions between lithium, inositol and mono-oleoylglycerol in the regulation of insulin secretion from isolated perfused rat islets / W. S. Zawalich, K. C. Zawalich, H. Rasmussen // *Biochem J.* — 1989. — Vol. 262(2). — P. 557–561.