

АДАПТОГЕННЫЕ И НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА АСКОРБАТА ЛИТИЯ

К.С. Остренко^{1,*}, О.А. Громова², В.В. Расташанский³

¹Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии,
биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ
«Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»
249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, пос. Институт

²ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» РАН»
119333, Российская Федерация, Москва, ул. Вавилова, 44, корп. 2

³ООО «Нормофарм»
121205, Российская Федерация, Москва, терр. инновационного центра Сколково, ул. Нобеля, 5

Цель исследования — изучение нейропротективных свойств аскорбата лития в моделях стресса *in vivo* и *in vitro*. Проведены нейробиологические и поведенческие исследования на моделях стресса в культуре нервных клеток и у экспериментальных животных. Показан выраженный нейропротективный эффект аскорбата лития при цитотоксическом действии глутамата *in vitro* и его адаптогенный эффект при индукции стресса *in vivo*. Результаты указывают на высокий нейропротективный потенциал аскорбата лития в условиях стресса, индуцируемого *in vivo* и *in vitro*.

Ключевые слова: стресс, эксайтотоксичность, глутамат, аскорбат лития

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Остренко К.С., Громова О.А., Расташанский В.В. Адаптогенные и нейропротективные свойства аскорбата лития. *Биомедицина*. 2022;18(3):122–127. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-122-127>

Поступила 28.03.2022

Принята после доработки 04.04.2022

Опубликована 10.09.2022

ADAPTOGENIC AND NEUROPROTECTIVE PROPERTIES OF LITHIUM ASCORBATE

Konstantin S. Ostrenko^{1,*}, Olga A. Gromova², Vyacheslav V. Rastashansky³

¹All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition —
branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry —
The All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst
249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institut Village

²Federal Research Center “Computer Science and Control” of the Russian Academy of Sciences
119333, Russian Federation, Moscow, Vavilova Str., 44/2

³Normopharm
121205, Russian Federation, Moscow, terr. of the Innovation Center Skolkovo, Nobelya Str., 5

In this work, we study the neuroprotective properties of lithium ascorbate in *in vivo* and *in vitro* stress models. Neurocytological and behavioral studies were carried out on models of stress in both a culture of nerve cells and experimental animals. The studied drug showed a significant neuroprotective effect of lithium ascorbate in neuronal cultures exposed to glutamate toxicity and an adaptogenic effect in stress models

in rats. The results suggest that lithium ascorbate possess a high neuroprotective potential in stress models *in vivo* and *in vitro*.

Keywords: stress, excitotoxicity, glutamate, lithium ascorbate

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Ostrenko K.S., Gromova O.A., Rastashansky V.V. Adaptogenic and Neuroprotective Properties of Lithium Ascorbate. *Journal Biomed.* 2022;18(3):122–127. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-122-127>

Submitted 28.03.2022

Revised 04.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Стресс — состояние повышенного напряжения организма, возникающее при отсутствии адекватной адаптивной реакции на стимулы окружающей среды (стрессоры). В норме их воздействие вызывает мобилизацию адаптационных возможностей организма. Когда вследствие тех или иных причин сопротивляемость организма снижается, наступает т. н. стадия истощения (дистресс), затяжной период которого может вести к развитию различных хронических заболеваний [5]. Хронический стресс снижает жизнеспособность нейронов и ведёт к нейродегенерации. Даже умеренный хронический стресс приводит к появлению таких признаков нейродегенерации, как нарушение синаптической передачи, накопление бета-амилоида и гиперфосфорилирование тау-белка. Эти эффекты реализуются на фоне избыточной активации глутаматных NMDA-рецепторов, что приводит к эксайтотоксической гибели нейронов [1].

Одним из факторов, способствующих развитию стресса, является недостаточность микронутриентов, в частности лития. Литий — эссенциальный микроэлемент, необходимый для нормального функционирования нервной системы. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о его нейротрофических и нейропротективных эффектах [2]. Применение препаратов лития повышает синтез нейротрофических факторов, препятствует

гибели нейронов через модуляцию каскада апоптоза PI3K/Akt/GSK3. В очень малых дозах (мкг и мг) литий крайне важен как ион, специфически (незаменимо) обеспечивающий активность молекулярных каскадов, которые способствуют ускорению роста нейронов и повышению их устойчивости к окислительному стрессу, улучшению пространственной памяти, предотвращению негативного влияния на неё хронического стресса [3, 4, 6]. По нашим данным, аскорбат лития в 8,4 раза менее токсичен, чем неорганическая соль карбоната лития. Аскорбат лития характеризуется наилучшими параметрами острой токсичности: так, LD₅₀ аскорбата лития для крыс Wistar составляет 6334 мг/кг, что позволяет отнести субстанцию аскорбата лития к 5-му классу «практически нетоксичных» веществ с LD₅₀ ≥ 5000 мг/кг.

Цель исследования — изучение нейропротективных свойств аскорбата лития (АЛ) в моделях стресса *in vivo* и *in vitro*. Оценивались параметры в тестах по иммобилизации и глутаматного стресса.

Материалы и методы

Исследования *in vivo*

В тесте по иммобилизации было сформировано 5 групп по 36 животных в каждой, подобранных по принципу пар-аналогов: группа 1 — контроль (вода); группа 2 — АЛ в дозе 60 мг/кг; группа 3 — АЛ в дозе

30 мг/кг; группа 4 — АЛ в дозе 10 мг/кг; группа 5 — интакт (без модели стресса). В качестве основных маркеров оценки стрессового воздействия определяли следующие показатели: концентрацию адреналина и норадреналина в крови, уровень эозинофилов (по Дунгеру), подсчёт количества язв в желудке.

Исследования *in vitro*

Использованы 7–8-сут. культуры, полученные методом ферментно-механической диссоциации клеток мозжечка 7-дневных крыс. Культивирование проводили 7–8 сут. в инкубаторе, заполненном газовой смесью (95% воздуха и 5% CO₂), при температуре 35,5 °C и относительной влажности 98%. К этому сроку культивированные зернистые нейроны (КЗН) достигают своей морфологической и нейрохимической зрелости. АЛ добавляли в среду на 7-е сут. *in vitro*, за 3 ч до воздействия глутамата. Были выбраны следующие его концентрации: 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мМ. 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.

Результаты и их обсуждение

В тесте иммобилизации (подвешивания) количество язв желудка, которое прямо коррелировало со степенью выраженности стресса, под влиянием АЛ заметно снижалось. Более длительный приём препарата приводил к более выраженному снижению числа язв. Отличия между группой 1 и контролем в соответствии с *t*-критерием Стьюдента оказались статистически достоверными ($p < 0,05$).

Число эозинофилов в цельной крови и концентрации адреналина и норадреналина являются специфическими маркерами воздействия различных стресс-факторов. С возрастанием дистресса число эозинофилов падает (эозинопения — ха-

рактерный биомаркер стресса), а адреналина и норадреналина — возрастает (стресс стимулирует секрецию катехоламинов симпатическими ядрами и корой надпочечников). Применение АЛ приводило к сохранению пула эозинофилов.

Результаты классических физиологических маркеров коррелирует с показателями основных гормонов стресса адреналина и норадреналина.

Как показал анализ эмпирических функций распределения средних чисел с использованием теста Колмогорова – Смирнова, АЛ (без добавления глутамата) в диапазоне концентраций от 0,1 до 1,0 мМ нетоксичен для культивированных зернистых нейронов КЗН.

При цитотоксическом действии глутамата (100 мкМ) АЛ в указанном диапазоне концентраций оказывал выраженный нейропротективный эффект (рис. 1). Анализ функций распределения средних чисел выживших нейронов при всех концентрациях АЛ показал достоверное отличие от результатов, полученных при действии только глутамата. Результаты применения АЛ даже в минимальной концентрации (0,1 мМ) приводили к достоверным отличиям ($D=0,19$; $p=0,049$). При повышении концентрации выраженность отличий увеличивалась (значения максимального отклонения D возрастали, а значения p снижались), а при самой высокой концентрации (1,0 мМ) отличия между глутаматной токсичностью и контролем были на грани статистической значимости ($D=0,17$; $p=0,059$). Таким образом, АЛ во всем изученном диапазоне концентраций (0,1–1,0 мМ) повышал выживаемость нейронов при глутаматном стрессе. Анализ данных с использованием теста ANOVA показал, что выживаемость нейронов при цитотоксическом действии глутамата в присутствии АЛ в диапазоне концентраций от 0,1 до 1 мМ, начиная с концентрации 0,2 мМ, достоверно дозозависимо повышалась в среднем на 12% (рис. 2).

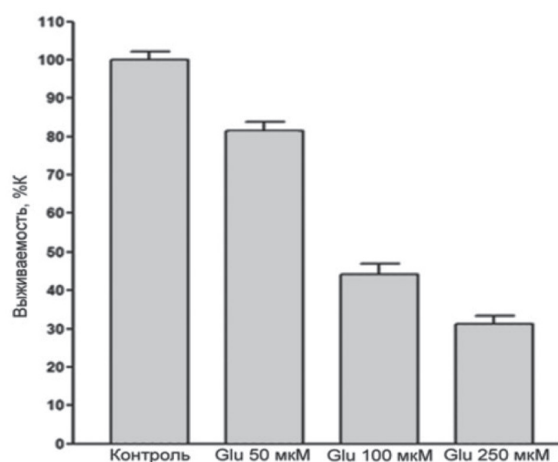


Рис. 1. Влияние глутамата (Glu) на выживаемость культур (число морфологически неизменённых нейронов на фиксированных препаратах, окрашенных трипановым синим).

Fig. 1. Effect of glutamate (Glu) on culture survival (number of morphologically unchanged neurons on fixed preparations stained with trypan blue).

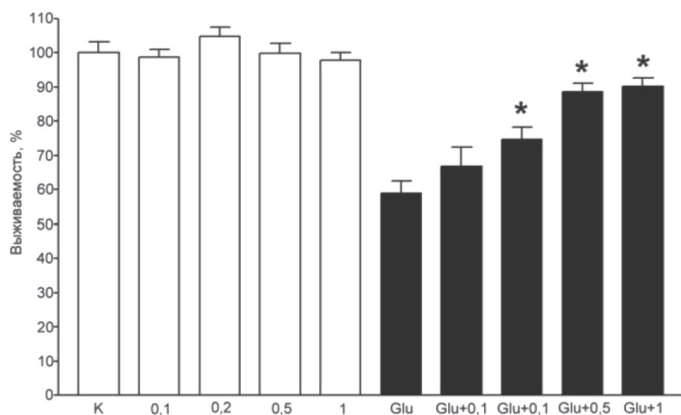


Рис. 2. Нейропротективный эффект АЛ при цитотоксическом воздействии глутамата.

Примечания: светлые столбцы — АЛ (0,1–1,0 мМ) в отсутствие глутамата, тёмные — в тех же концентрациях в присутствии 100 мкМ глутамата (Glu); К — контроль; * — $p < 0,01$ по сравнению с глутаматом без добавления препарата; для каждого столбца подсчитано по 30 полей зрения.

Fig. 2. Neuroprotective effect of lithium ascorbate under the cytotoxic effect of glutamate.

Notes: light columns — lithium ascorbate (0.1–1.0 mM) in the absence of glutamate, dark columns — at the same concentrations in the presence of 100 μ M glutamate (Glu); K — control; * — $p < 0.01$ compared with glutamate without the addition of the drug; 30 visual fields were counted for each column.

При подсчёте числа выживших КЗН АЛ препятствует их деструкции под воздействием глутамата. При подсчёте числа выживших КЗН АЛ препятствует их деструкции под воздействием глутамата. При подсчёте числа выживших КЗН АЛ препятствует их деструкции под воздействием глутамата.

Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют о выраженных адаптогенных свойствах нетоксичной стандартизированной субстанции органической соли лития — аскорбата лития в условиях стресса, моделируемого *in vivo* и *in vitro*, и о тесной связи между стрессом и нейродеструктивными процессами на клеточном уровне. В экспериментах *in vivo* препарат способствовал сохранению пула эозинофилов и снижению уровня адреналина и норадреналина в крови, улучшал

показатели адаптации животных. При цитотоксическом действии глутамата *in vitro* аскорбат лития во всём исследованном диапазоне концентраций (0,1–1,0 мМ) оказывал защитный эффект. Таким образом, результаты наших исследований расширяют представления о нейропротективном потенциале малых доз препаратов лития и согласуются с ранее проведёнными исследованиями в экспериментах на культурах клеток стриатума, гиппокампа, неокортекса, мозжечка, а также при черепномозговой травме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Chouhan A., Abhyankar A., Basu S. The feasibility of low-dose oral lithium therapy and its effect on thyroidal radioiodine uptake, retention, and hormonal parameters in various subcategories of hyperthyroid patients: A pilot study. *Nucl. Med. Commun.* 2016;37(1):74–78. DOI: 10.1097/mnm.0000000000000414.
2. Gromova O., Torshin I., Gogoleva I.V., Pronin A.V., Stelmashuk E.V., Isaev N.K., Genrikhs E.E., Demidov V.I., Volkov A.Y., Khaspekov G.L., Alexandrova O.P. Pharmacokinetic and pharmacodynamic synergism between neuropeptides and lithium in the neurotrophic and neuroprotective action of cerebrolysin. *Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S.S. Korsakova.* 2015;115(3):65–72. DOI: 10.17116/jnevro20151153165-72.
3. Hozer F., Sarrazin S., Laidi C., Favre P., Pauling M., Cannon D., McDonald C., Emsell L., Mangin J.-F., Duchesnay E., Bellani M., Brambilla P., Wessa M., Linke J., Polosan M., Versace A., Phillips M.L., Delavest M., Bellivier F., Hamdani N., d'Albis M.A., Leboyer M., Houenou J. Lithium prevents grey matter atrophy in patients with bipolar disorder: An international multicenter study. *Psychol. Med.* 2021;51(7):1201–1210. DOI: 10.1017/s0033291719004112.
4. Li M., Xia M., Chen W., Wang J., Yin Y., Guo C., Li C., Tang X., Zhao H., Tan Q., Chen Y., Jia Z., Liu X., Feng H. Lithium treatment mitigates white matter injury after intracerebral hemorrhage through brain-derived neurotrophic factor signaling in mice. *Transl. Res.* 2019;217:61–74. DOI: 10.1016/j.trsl.2019.12.006.
5. Ochoa E.L.M. Lithium as a neuroprotective agent for bipolar disorder: An overview. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2021;42(1):85–97. DOI: 10.1007/s10571-021-01129-9.
6. Torshin I.Y., Gromova O.A., Kovrazhkina E.A., Razinskaya O.D., Prokopovich O.A., Stakhovskaya L.V. Intelligent analysis of data on the relationship between blood trace elements and the condition of patients with amyotrophic lateral sclerosis indicated decreased levels of lithium and selenium. *Cons. Med.* 2017;19(9):88–96. DOI: 10.26442/2075-1753_19.9.88-96.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Остренко Константин Сергеевич*, д.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;
e-mail: Ostrenkoks@gmail.com

Konstantin S. Ostrenko*, Dr. Sci. (Biol.). All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition — branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry — The All-Russian Institute of Animal Husbandry named after academician L.K. Ernst;
e-mail: Ostrenkoks@gmail.com

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф.,
ФГУ «Федеральный исследовательский центр
«Информатика и управление» РАН»;

e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Olga A. Gromova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Federal
Research Center “Computer Science and Control”
of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Расташанский Вячеслав Валерьевич, ООО
«Нормофарм»;

e-mail: normotim@yandex.ru

Vyacheslav V. Rastashansky, Normopharm;

e-mail: normotim@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author