

doi: 10.17116/jnevro201611612186-91

Адаптогенные и нейропротективные свойства аскорбата лития

А.В. ПРОНИН^{1*}, О.А. ГРОМОВА¹, И.С. САРДАРЯН², И.Ю. ТОРШИН³, Е.В. СТЕЛЬМАШУК⁴,
К.С. ОСТРЕНКО⁵, О.П. АЛЕКСАНДРОВА⁴, Е.Е. ГЕНРИХС⁴, Л.Г. ХАСПЕКОВ⁴

¹ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия», Иваново; ²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург; Россия; ³ГБАОУ ВПО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Москва; ⁴ФГБНУ «Научный Центр Неврологии», Москва; ⁵ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных», Калужская обл., Боровск, Россия

Цель исследования. Изучение нейропротективных свойств аскорбата лития (АЛ) в моделях стресса *in vivo* и *in vitro*.

Материал и методы. Нейроцитологические и поведенческие исследования на моделях стресса в культуре нервных клеток и у экспериментальных животных. **Результаты.** Показан выраженный нейропротективный эффект АЛ при цитотоксическом действии глутамата *in vitro* и его адптогенный эффект при индукции стресса *in vivo*. **Заключение.** Результаты указывают на высокий нейропротективный потенциал АЛ в условиях стресса, индуцируемого *in vivo* и *in vitro*.

Ключевые слова: стресс, эксайтотоксичность, глутамат, аскорбат лития.

Adaptogenic and neuroprotective effects of lithium ascorbate

A.V. PRONIN, O.A. GROMOVA, I.S. SARDARYAN, I.YU. TORSHIN, E.V. STEL'MASHUK, K.S. OSTRENKO,
O.P. ALEKSANDROVA, E.E. GENRIKHS, L.G. KHASPEKOV

Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia; Moscow Institute of Physics and Technology (State University); Research Center of Neurology, Moscow, Russia; All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Food of Animals, Kaluga Region, Borovsk, Russia; St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

Objective. Investigation of the neuroprotective properties of lithium ascorbate on the stress models *in vivo* and *in vitro*. **Materials and methods.** Neurocytological and behavioral studies on nerve cell culture and animal stress models. **Results.** Significant neuroprotective effect of lithium ascorbate in neuronal cultures exposed to glutamate toxicity and adaptogenic effect of this drug in stress model in rats were shown. **Conclusion.** The results suggest lithium ascorbate has a high neuroprotective potential in stress models *in vivo* and *in vitro*.

Keywords: stress, neurocytology, glutamate, lithium ascorbate.

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 так называемая стадия истощения (дистресс), затяжной период которого может вести к развитию различных хронических заболеваний [1].

Хронический стресс снижает жизнеспособность нейронов и ведет к нейродегенерации. Даже умеренный хронический стресс приводит к появлению таких признаков нейродегенерации, как нарушение синаптической передачи, накопление бета-амилоида и гиперфосфорилирование тау-белка [2—5]. Эти эффекты реализуются на фоне избыточной активации глутаматных NMDA-рецепторов, что приводит к эксайтотоксической гибели нейронов [6].

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. 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 [7], улучшению пространственной памяти, предотвращению негативного влияния на нее хронического стресса [8]. Применение лития в безопасных малых дозах вызывает увеличение объема серого вещества мозга [9—11]. 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 Вистар составляет - 6334 мг/кг, что позволяет отнести субстанцию

аскорбата лития к 5 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*.

Материал и методы

Защитные свойства АЛ исследованы *in vivo* на двухмесячных крысах линии Вистар в условиях транспортного и иммобилизационного стресса и *in vitro* в культуре зернистых нейронов мозжечка, подвергнутых цитотоксическому действию глутамата.

Исследования *in vivo*

Задачей исследования являлась оценка защитных свойств парентерального введения АЛ в различных дозах на моделях стресса. Было сформировано 5 групп по 36 животных в каждой, подобранных по принципу парных аналогов. За 7 сут до начала эксперимента животных выдерживали на карантине. Крысы всех групп содержались в стандартных условиях вивария в клетках по 18 животных. Корм — премикс ПЛЖ (в соответствии с ГОСТ Р 50258-92), подстилка — мелкая сухая стружка. 1-я группа — контроль (крысы получают воду); 2-я группа — АЛ вводился в дозе 120 мг/кг от массы тела; 3-я группа — АЛ вводился в дозе 60 мг/кг; 4-я группа — АЛ вводился в дозе 30 мг/кг; 5-я группа — интактные крысы (без модели стресса). АЛ в группах 2—4 вводили в одно и то же время, через 2 ч после утреннего кормления в виде раствора через зонд, в качестве растворителя использовали воду для инъекций («Буфус» Новосибхимфарм), объем введения — 1,5 мл. В группах 2-4 АЛ вводили в течение 3 нед. Ежедневно для определения защитного эффекта проводили тесты на подвешивание и имитацию транспортного стресса.

Тест подвешивания. Животное подвешивали на 24 ч, после завершения эксперимента из подъязычных сосудов в пробирку забирали цельную кровь. Для определения числа эозинофилов в цельной капиллярной крови по методу Дункера забор проводили после отсечения кончика хвоста. Метод основан на сохранении эозинофилов в растворе ацетона, при котором все остальные клетки крови разрушаются. Подсчет клеток проводили в камере Горяева не позднее чем через 30 мин после забора крови. Количество эозинофилов подсчитывали в 100 больших квадратах и умножали на 50, что соответствует их количеству в 1 мкл. В сыворотке крови определяли содержание адреналина и норадреналина, которые являются специфическими маркерами воздействия на стресс. По 6 отобранных животных из каждой группы помещали в эксикатор с диэтиловым эфиром и проводили спинальную декапитацию для обследования брюшной полости и подсчета количества язв на слизистой желудка.

Тест имитации транспортного стресса. Проводили на универсальном вращающемся шейкере Unimax-1010. На его площадке закрепляли клетку, в которую помещали 5 животных, находящихся в свободном состоянии. Последовательно проводили три эксперимента с интервалами в 7 сут, по 240 мин каждый, при скорости вращения 120 об/мин. По окончании теста на основании описанных выше методик осуществляли изучение состояния организма животных. В сыворотке крови определяли содержание аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотранс-

феразы (АСТ), креатинина (автоматический биохимический анализатор Konelab-20i, Финляндия—США).

Тест открытое поле (ТОП). Регистрировали горизонтальную и вертикальную двигательную активность, груминг, обнюхивание отверстий, дефекацию. Кроме того, наблюдали за такими моторными отклонениями, как шаткость походки, тремор и др.

Исследования *in vitro*.

Использованы 7—8-суточные культуры, полученные методом ферментно-механической диссоциации клеток мозжечка 7-дневных крыс по ранее описанной методике [12]. Животных умерщвляли летальной дозой эфирного наркоза, после чего 5 мин стерилизовали 70% этанолом, извлекали мозжечок и переносили его в пластиковую чашку Петри с фосфатным буфером, лишенным ионов кальция и магния. Фрагменты ткани инкубировали 15 мин при 37 °С в фосфатном буфере, содержащем 0,05% трипсина, 0,02% ЭДТА и 0,8% глюкозы. После инкубации ткань промывали в двух смегах фосфатного буфера и один раз — в питательной среде культивирования, в которой затем подвергали механической диссоциации. В ее состав входило 90% среды «Игла», 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ глутамин, 5 мМ КСl и 10 мМ буфера Нерес, рН 7,2—7,4.

Суспензию клеток центрифугировали 1 мин при 1000 об/мин, супернатант удаляли, а осадок ресуспендировали в питательной среде. Культивирование проводили в 96-луночных пластиковых планшетах, покрытых полиэтиленгликолем или полилизинном, где уровень хлорида калия был доведен до 25 мМ. В каждую ячейку планшета добавляли по 0,1 мл суспензии клеток.

Культивирование проводили 7—8 сут в инкубаторе, заполненном газовой смесью (95% воздуха и 5% CO₂), при температуре 35,5 °С и относительной влажности 98%. К этому сроку культивированные зернистые нейроны (КЗН) достигают своей морфологической и нейрохимической зрелости. Состояние культур контролировали ежедневно путем визуального просмотра в инвертированном микроскопе при фазовом контрасте.

Раствор АЛ готовили из нового сухого вещества непосредственно перед внесением в среду культивирования. Раствор стерилизовали фильтрацией и добавляли в питательную среду на 2-е сутки *in vitro* на весь срок культивирования (до 7 сут). В части экспериментов АЛ добавляли в среду на 7 сутки *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 [13, 14]. Глутамат (Sigma, USA, N.G-1626) при добавлении к культурам на 7-е сутки оказывал дозозависимый токсический эффект (рис. 1). Выбор концентрации проводили в каждом опыте таким образом, чтобы выживаемость КЗН составляла 30—80% от контроля. Такая выживаемость позволяет выявить действие различных веществ на процесс гибели клеток. При выживаемости менее 30% или более 80% нейропротективные эффекты могут не обнаружиться. Использовали подсчет клеток при действии потенциальных нейропротекторов, добавляя в питательную среду подобранные токсические концентрации глутамата (50—250 мкМ).

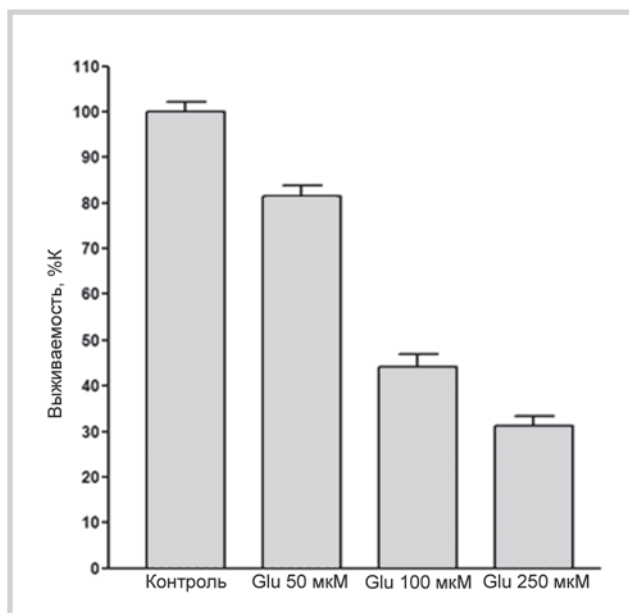


Рис. 1. Влияние глутамата (Glu) на выживаемость культур (число морфологически неизмененных нейронов на фиксированных препаратах, окрашенных трипановым синим).

Таблица 1. Количество язв желудка при проведении теста подвешивания

Группа	Количество язв		
	7-й день	14-й день	21-й день
1-я	23,5±0,9	21,2±0,2*	21,2±0,2*
2-я	4,0±0,5*	2,5±1,1	2,1±0,7
3-я	4,1±0,8	2,6±0,4*	2,4±0,5
4-я	4,5±0,9	2,4±0,2*	1,9±0,4*
5-я	1,0±0,1*	1,5±0,5	1,0±0,5*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * — статистически достоверное различие с контролем по критерию Данна ($p < 0,05$).

Таблица 2. Количество эозинофилов в цельной крови в тесте подвешивания (в мкл)

Группа	Количество эозинофилов		
	7-й день	14-й день	21-й день
1-я	311±58	285±15	291±2
2-я	768±67	885±38	911±82
3-я	791±12*	866±94	910±41*
4-я	764±65	897±72	954±97
5-я	953±29	975±5*	981±54*

Таблица 3. Концентрация адреналина и норадреналина в сыворотке крови в тесте подвешивания (мкг/л)

Группа	Концентрация адреналина и норадреналина в сыворотке крови					
	7-й день		14-й день		21-й день	
	адреналин	норадреналин	адреналин	норадреналин	адреналин	норадреналин
1-я	27±3,9	68,6±1,5	28,3±1,2	68,9±9,41	27,7±2,46	70,5±3,54
2-я	7,6±0,38*	20,2±5,67	8,7±3,82	20,3±4,83	9,6±3,28*	18,4±5,27*
3-я	7,9±0,21*	22,1±1,98	7,1±1,19	20,3±3,49	7,3±2,14*	19,3±6,13
4-я	8,1±0,52*	24,3±2,2*	6,9±2,77*	18,2±5,28	6,9±0,97*	17,9±0,95*
5-я	6,7±0,65*	18,6±1,95	6,1±0,51*	17,9±0,85*	6,4±2,42	17,2±0,56*

На каждую точку брали по 3 культуры, в каждой из которых фотографировали и просчитывали последовательно по 5 полей зрения (45 полей из 9 культур в 3 независимых экспериментах), распределение переменных носило нормальный характер. Количество нейронов с неизменной морфологией в контрольных культурах принимали за 100% выживаемости.

Для статистического анализа использовали тест ANOVA с поправками Бонферрони/Даннетта и непараметрический тест Колмогорова—Смирнова, который отличается высокой чувствительностью и применим для анализа выборок вне зависимости от условия нормальности распределения. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде $M \pm SD$.

Результаты и обсуждение

Эксперименты *in vivo*

В тесте подвешивания количество язв желудка, которое прямо коррелировало со степенью выраженности стресса, под влиянием АЛ заметно снижалось. Более длительный прием препарата приводил к более выраженному снижению числа язв (табл. 1). Отличия между 1-й и контрольной группами в соответствии с *t*-критерием 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 — характерный биомаркер стресса), а адреналина и норадреналина — возрастает (стресс стимулирует секрецию катехоламинов симпатическими ядрами и корой надпочечников). Применение АЛ приводило к сохранению пула эозинофилов (табл. 2) и снижению концентрации адреналина и норадреналина (табл. 3).

Модель транспортного стресса. Применение АЛ оказалось эффективным в условиях транспортного стресса, неестественного для животных и поэтому вызывающего у них выраженную поведенческую реакцию. При назначе-

Таблица 4. Количество эозинофилов в цельной крови в модели транспортного стресса

Группа	Количество эозинофилов в цельной крови		
	7-й день	14-й день	21-й день
1-я	428±11	401±81	425±69
2-я	856±42	901±16*	907±43*
3-я	822±87	919±41*	922±93
4-я	794±69	921±91	928±107
5-я	978±51	991±6*	979±38*

нии препарата животные более активно стремились снизить неблагоприятные воздействия стресса и адаптироваться к меняющимся условиям: пытались найти место, наименее подверженное колебаниям, тесно группировались, чтобы колебания группы компенсировали колебания платформы аппарата.

Данные анализа крови и биохимические показатели подтвердили поведенческие критерии адаптогенной активности АЛ. Препарат способствовал сохранению пула эозинофилов в крови (табл. 4) и нормализации концентраций АЛТ и креатинина, что указывает на снижение

степени отрицательного воздействия стресса на печень (табл. 5).

Таким образом, экспериментальные данные свидетельствуют, что при пероральном введении АЛ происходит быстрая, в течение первых 7 суток, адаптация организма к использованным моделям стресса. Минимальная доза препарата (30 мг/кг) существенно не уступает по эффективности более высоким дозам (60–120 мг/кг).

Для определения степени возбуждения крыс при дистрессе использовался ТОП. Непосредственно перед исследованием животные в течение 5 дней получали АЛ. Оказалось, что препарат дозозависимо улучшает показа-

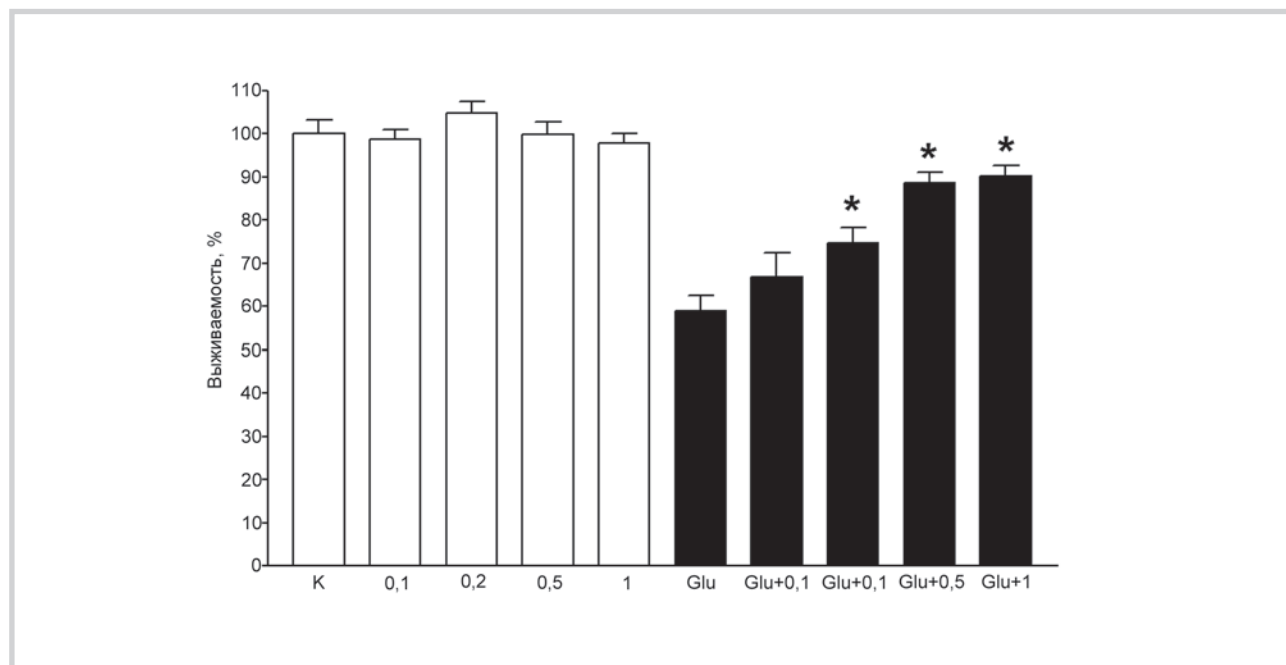


Рис. 4. Нейропротективный эффект АЛ при цитотоксическом воздействии глутамата.

Светлые столбцы — АЛ (0,1–1,0 мМ) в отсутствие глутамата, темные — в тех же концентрациях в присутствии 100 мкМ глутамата (Glu). К — контроль. Для каждого столбика подсчитано по 30 полей зрения. * — $p < 0,01$ по сравнению с глутаматом без добавления препарата.

Таблица 5. Влияние АЛ на концентрации в крови АЛТ и креатинина в модели транспортного стресса

Группа	7-й день		14-й день		21-й день	
	АЛТ, ммоль/л	креатинин, мкмоль/л	АЛТ, ммоль/л	креатинин, мкмоль/л	АЛТ, ммоль/л	креатинин, мкмоль/л
1-я	13,2±5,97	19,4±2,45*	13,5±4,84	17,9±5,31	14,0±4,91	19,1±2,12
2-я	32,4±7,75	39,8±6,13	31,7±7,32	47,8±1,46	30,1±7,42	42,1±2,97*
3-я	31,0±3,15*	39,6±7,98	33,1±2,84*	48,3±8,27	32,4±6,37	45,6±2,73*
4-я	29,8±8,45	36,5±3,84	32,1±9,10	48,1±3,82*	31,7±3,14	46,3±3,26*
5-я	36,3±2,64*	48,8±4,50	38,1±1,49*	50,1±4,86	36,9±3,87*	49,2±4,61

Таблица 6. Влияние АЛ на поведение крыс в ТОП

Группа	Вертикальная двигательная активность	Горизонтальная двигательная активность	Количество заглядываний в отверстие	Число актов груминга	Количество выходов в центральную зону	Количество болюсов
1-я	7,21±2,75	3,48±0,75	2,96±0,42	23,47±2,38	0,9±0,42	6,46±0,16
2-я	29,46±3,74	6,75±0,68*	9,98±0,96*	8,44±4,76	2,84±0,14*	2,54±0,68*
3-я	27,32±2,87*	6,18±0,42*	9,32±3,13	9,43±4,12	3,12±2,17	2,12±0,48*
4-я	17,24±4,86*	5,56±1,24*	4,76±2,41	17,25±3,61	1,21±1,82*	5,14±0,23*

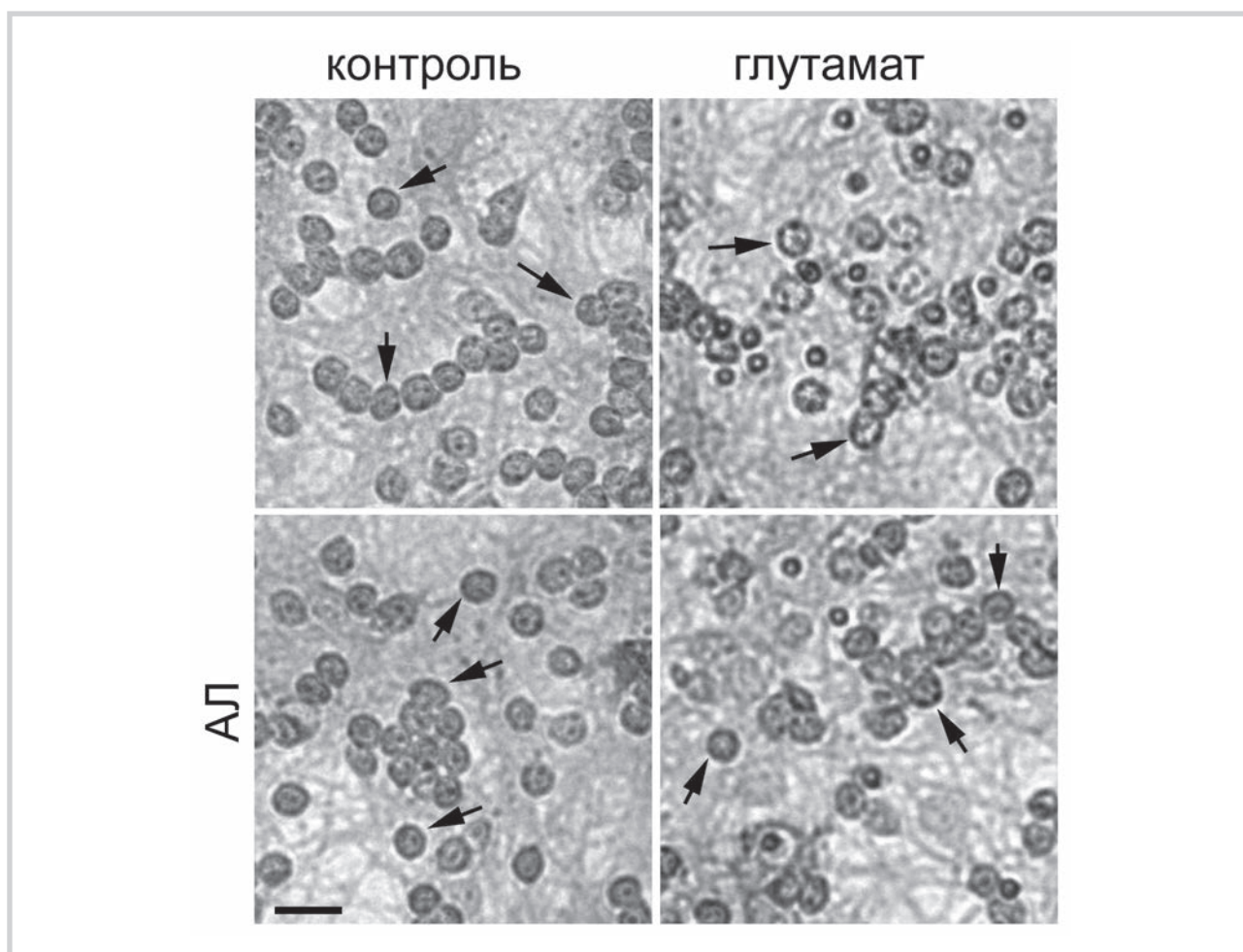


Рис. 5. Нейропротективное действие Ал при нейротоксическом действии глутамата (100 мкМ, 24 ч) в культуре клеток мозжечка. КЗН указаны стрелками.

Окраска фиксированных культур трипановым синим. Масштаб 1:0,00015.

тели двигательной и исследовательской активности и снижает выраженность дистресса (табл. 6).

Эксперименты *in vitro*

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 КЗН (рис. 2, на цв. вклейке).

При цитотоксическом действии глутамата (100 мкМ) АЛ в указанном диапазоне концентраций оказывал выраженный нейропротективный эффект. Анализ функций распределения средних чисел выживших нейронов при всех концентрациях АЛ показал достоверное отличие от результатов, полученных при действии только глутамата (рис. 3, на цв. вклейке). 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 глутамат-

ной 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. 4). При подсчете числа выживших КЗН на окрашенных препаратах (рис. 5) хорошо заметно, что присутствие в питательной среде 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 нейродеструктив-

ными 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 в тесте подвешивании и ТОП в модели транспортного стресса. При цитотоксическом действии глутамата *in vitro* аскорбат лития во всем исследованном диапазоне concentra-

ций (0,1—1,0 мМ) оказывал защитный эффект. Таким образом, результаты наших исследований расширяют представления о нейропротективном потенциале малых доз препаратов лития, показанном ранее в экспериментах на культурах клеток стриатума [15], гиппокампа [16, 17], неокортекса [17—19], мозжечка [20], а также при черепно-мозговой травме [21].

ЛИТЕРАТУРА

1. Селье Г. *Стресс без дистресса*. М.: Прогресс; 1979.
2. Nemanth Kumar BS, Mishra SK, Rana P, Singh S, Khushu S. Neurodegenerative evidences during early onset of depression in CMS rats as detected by proton magnetic resonance spectroscopy at 7 T. *Behav Brain Res*. 2012;232(1):53-59. doi: 10.1016/j.bbr.2012.03.011
3. Cuadrado-Tejedor M, Ricobaraza A, Del Río J, Frechilla D, Franco R, Pérez-Mediavilla A, Garcia-Osta A. Chronic mild stress in mice promotes cognitive impairment and CDK5-dependent tau hyperphosphorylation. *Behav Brain Res*. 2011; 220(2):338-343. doi: 10.1016/j.bbr.2011.01.005
4. Qiao H, An SC, Ren W, Ma XM. Progressive alterations of hippocampal CA3-CA1 synapses in an animal model of depression. *Behav Brain Res*. 2014;275:191-200. doi: 10.1016/j.bbr.2014.08.040
5. AbdAlla S, El-Hakim A, Abdelbaset A, Elfaramawy Y, Quitterer U. Inhibition of ACE Retards Tau Hyperphosphorylation and Signs of Neuronal Degeneration in Aged Rats Subjected to Chronic Mild Stress. *Biomed Res Int*. 2015;2015:917156. doi.org/10.1155/2015/917156
6. Hynd MR, Scott HL, Dodd PR. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem Int*. 2004;45(5):583-595. doi.org/10.1016/j.neuint.2004.03.007
7. Allagui MS, Nciri R, Rouhaud MF, Murat JC, El Feki A, Croute F, Vincent C. Long-term exposure to low lithium concentrations stimulates proliferation, modifies stress protein expression pattern and enhances resistance to oxidative stress in SH-SY5Y cells. *Neurochem Res*. 2009;34(3):453-462. doi.org/10.1007/s11064-008-9804-8
8. Sharifzadeh M, Aghsami M, Gholizadeh S, Tabrizian K, Soodi M, Khalaj S, Ranjbar A, Hosseini-Sharifabad A, Roghani A, Karimfar MH. Protective effects of chronic lithium treatment against spatial memory retention deficits induced by the protein kinase AII inhibitor H-89 in rats. *Pharmacology*. 2007;80(2-3):158-165. doi.org/10.1159/000103265
9. Moore GJ, Bebchuk JM, Wilds IB, Chen G, Manji HK. Lithium-induced increase in human brain grey matter. *Lancet*. 2000;356(9237):1241-1242. doi.org/10.1016/s0140-6736(00)02793-8
10. Lyoo IK, Dager SR, Kim JE, Yoon SJ, Friedman SD, Dunner DL, Renshaw PF. Lithium-induced gray matter volume increase as a neural correlate of treatment response in bipolar disorder: a longitudinal brain imaging study. *Neuropsychopharmacol*. 2010;35(8):1743-1750. doi.org/10.1038/npp.2010.41
11. Sassi RB, Nicoletti M, Brambilla P, Mallinger AG, Frank E, Kupfer DJ, Keshavan MS, Soares JC. Increased gray matter volume in lithium-treated bipolar disorder patients. *Neurosci Lett*. 2002;329(2):243-245. doi.org/10.1016/s0304-3940(02)00615-8
12. Андреева Н.А., Стельмашук Е.В., Исаев Н.К., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Викторов И.В. Нейропротекторные эффекты ноотропного дипептида ГВС-111 при кислородно-глюкозной депривации, глутаматной токсичности и оксидативном стрессе *in vitro*. *Бюллетень эксперим биол мед*. 2000;130:10:18-421.
13. Стельмашук Е.В., Новикова С.В., Исаев Н.К. Влияние глутамина на гибель культивированных зернистых нейронов, индуцированную глюкозной депривацией и химической гипоксией. *Биохимия*. 2010;75:8:1150-1156.
14. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гоголева И.В., Пронин А.В., Стельмашук Е.В., Исаев Н.К., Генрихс Е.Е., Демидов В.И., Волков А.Ю., Хаспекоев Г.Л., Александрова О.П. Фармакокинетический и фармакодинамический синергизм между нейропептидами и литием в реализации нейротрофического и нейропротективного действия церебральной литии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015;115:3:65-72. doi: 10.17116/jnevro201511531
15. Senatorov VV, Ren M, Kanai H, Wei H, Chuang D-M. Short-term lithium treatment promotes neuronal survival and proliferation in rat striatum infused with quinolinic acid, an excitotoxic model of Huntington's disease. *Mol Psychiatry*. 2004;9:371-385. doi.org/10.1038/sj.mp.4001463
16. Dwivedi T, Zhang H. Lithium-induced neuroprotection is associated with epigenetic modification of specific BDNF gene promoter and altered expression of apoptotic-regulatory proteins. *Front Neurosci*. 2015;8:457. doi.org/10.3389/fnins.2014.00457
17. De-Paula V, Kerr DS, De Carvalho MPF, Schaeffer EL, Talib LL, Gattaz WF, Forlenza OV. Long-term lithium treatment increases cPLA2 and iPLA2 activity in cultured cortical and hippocampal neurons. *Molecules*. 2015;20:19878-19885. doi.org/10.3390/molecules201119663
18. Emamghoreishi M, Keshavarz M, Nekooeian AA. Acute and chronic effects of lithium on BDNF and GDNF mRNA and protein levels in rat primary neuronal, astroglial and neuroastroglia cultures. *Iran J Basic Med Sci*. 2015;18:240-246.
19. Hashimoto R, Hough C, Nakazawa T, Yamamoto T, Chuang D-M. Lithium protection against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons: involvement of NMDA receptor inhibition possibly by decreasing NR2B tyrosine phosphorylation. *J Neurochem*. 2002;80:589-597. doi.org/10.1046/j.0022-3042.2001.00728.x
20. Nonaka S., Hough C., Chuang D.-M. Chronic lithium treatment robustly protects neurons in the central nervous system against excitotoxicity by inhibiting N-methyl-D-aspartate receptor-mediated calcium influx. *PNAS*. 1998;95:2642-2647. doi.org/10.1073/pnas.95.5.2642
21. Leeds RR, Yu F, Wang Z, Chiu C-T, Zhang Y, Leng Y, Linares GR, Chuang D-M. A new avenue for lithium: intervention in traumatic brain injury. *ACS Chem Neurosci*. 2014;5:422-433. doi.org/10.1021/cn500040g