

ISSN 2077-8333 (print)
ISSN 2311-4088 (online)

ЭПИЛЕПСИЯ и пароксизмальные состояния



2024 Том 16 №2

EPILEPSY AND PAROXYSMAL CONDITIONS

2024 Vol. 16 №2

<https://epilepsia.su>

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта epilepsia.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

<https://doi.org/10.17749/2077-8333/epi.par.con.2024.195>

ISSN 2077-8333 (print)

ISSN 2311-4088 (online)

Изучение эффектов органической и неорганической солей лития на модели первично-генерализованных судорог у крыс

В.И. Демидов¹, А.Г. Калачева¹, Т.Е. Богачева¹, И.Ю. Торшин²,
О.А. Громова², В.В. Расташанский³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Шереметевский пр-т, д. 8, Иваново 153012, Россия)

² Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук (ул. Вавилова, д. 44, корп. 2, Москва 119334, Россия)

³ Общество с ограниченной ответственностью «Нормофарм» (ул. Нобеля (территория Инновационного центра Сколково), д. 5, Москва 121205, Россия)

Для контактов: Татьяна Евгеньевна Богачева, e-mail: tatiana.boga4iova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Соли лития используются в психиатрии и, в зависимости от аниона, могут проявлять нейропротекторные эффекты.

Цель: изучить влияние аскорбата лития (LiAsc) и карбоната лития в различных дозах *per os* на выраженность и тяжесть течения у крыс первично-генерализованных судорог, вызванных тиосемикарбазидом *in vivo*.

Материал и методы. Исследование проведено на 30 белых крысах-самцах линии Вистар массой 200–300 г в пяти группах: контроль, карбонат лития в дозе 5 мг/кг, LiAsc в дозах 5, 10, 15 мг/кг/сут, вводившиеся зондированием *per os* в течение 14 сут. Модель первично-генерализованных судорог воспроизведена введением 28 мг/кг тиосемикарбазида внутрибрюшинно. Степень неврологического дефицита оценивали по показателям судорог (латентный период до судорог, количество судорожных приступов и вздрагиваний, клонические судороги и др.). Проведены патогистологические исследования ткани головного мозга с морфометрией гистологических срезов на анализаторе изображения BioVision (Австрия).

Результаты. Курсовое введение и карбоната, и LiAsc статистически значимо снижало длительность судорог. Использование LiAsc в дозах 10–15 мг/кг/сут достоверно не только сокращало длительность судорог ($p=0,01$), но и увеличивало латентный период до них ($p=0,03$), уменьшало число приступов ($p<0,05$) и частоту встречаемости тонической экстензии ($p=0,01$).

Заключение. Доза LiAsc 10 мг/кг/сут достаточна для снижения неврологического дефицита при воспроизведении модели тиосемикарбазидных судорог, что подтверждается результатами патогистологического исследования и морфометрического анализа образцов головного мозга.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Аскорбат лития, карбонат лития, нейропротекторный эффект, первично-генерализованные судороги, тоническая экстензия, дозозависимый эффект, крысы линии Вистар.

ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ

Поступила: 10.04.2024. В доработанном виде: 28.05.2024. Принята к печати: 20.06.2024. Опубликовано: 30.06.2024.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия конфликта интересов в отношении данной публикации.

Вклад авторов

Авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Для цитирования

Демидов В.И., Калачева А.Г., Богачева Т.Е., Торшин И.Ю., Громова О.А., Расташанский В.В. Изучение эффектов органической и неорганической солей лития на модели первично-генерализованных судорог у крыс. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния*. 2024; 16 (2): 110–119. <https://doi.org/10.17749/2077-8333/epi.par.con.2024.195>.

The effects of organic and inorganic lithium salts assessed in rat primary generalized seizure model

V.I. Demidov¹, A.G. Kalacheva¹, T.E. Bogacheva¹, I.Yu. Torshin², O.A. Gromova², V.V. Rastashansky³

¹ Ivanovo State Medical University (8 Sheremetevsky Ave., Ivanovo 153012, Russia)

² Federal Research Center “Computer Science and Control”, Russian Academy of Sciences (44 corp. 2 Vavilov Str., Moscow 119333, Russia)

³ Normofarm LLC (5 Nobel Str. (Skolkovo Innovation Center Territory), Moscow 121205, Russia)

Corresponding author: Tatiana E. Bogacheva, e-mail: tatiana.boga4iova@yandex.ru

SUMMARY

Background. Lithium salts are used in psychiatry and may exhibit neuroprotective effects due to anion constituents.

Objective: to study a dose-dependent effect of oral lithium ascorbate (LiAsc) and lithium carbonate on manifestation and severity of primary generalized seizures caused by thiosemicarbazide in rats *in vivo*.

Material and methods. The study was conducted on 30 Wistar white male rats weighing 200–300 g in five groups: control, lithium carbonate 5 mg/kg, LiAsc 5, 10, 15 mg/kg/day, administered by probing for 14 days. The model of primary generalized seizures was reproduced by intraperitoneally administered 28 mg/kg thiosemicarbazide. The degree of neurological deficit was assessed based on seizure indicators (latency period before seizures, number of seizures and startles, clonic seizures, etc.). Histopathological studies of brain tissue were carried out using morphometry of histological sections on BioVision image analyzer (Austria).

Results. A course of carbonate and LiAsc significantly reduced seizure duration. The use of LiAsc at doses of 10–15 mg/kg/day not only significantly shortened seizure duration ($p=0.01$), but also increased the latent period before seizures ($p=0.03$), reduced the number of seizures ($p<0.05$) as well as rate of developing tonic extension ($p=0.01$).

Conclusion. LiAsc at dose of 10 mg/kg/day is sufficient for reducing neurological deficits in thiosemicarbazide-induced seizure model, further confirmed by the data of brain histopathological examination and morphometric analysis.

KEYWORDS

Lithium ascorbate, lithium carbonate, neuroprotective effect, primary generalized seizures, tonic extension, dose-dependent effect, Wistar rats.

ARTICLE INFORMATION

Received: 10.04.2024. Revision received: 28.05.2024. Accepted: 20.06.2024. Published: 30.06.2024.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest regarding this publication.

Authors' contribution

All authors contributed equally to this article.

For citation

Demidov V.I., Kalacheva A.G., Bogacheva T.E., Torshin I.Yu., Gromova O.A., Rastashansky V.V. The effects of organic and inorganic lithium salts assessed in rat primary generalized seizure model. *Epilepsia i paroksizmal'nye sostoania / Epilepsy and Paroxysmal Conditions*. 2024; 16 (2): 110–119 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2077-8333/epi.par.con.2024.195>.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Результаты фундаментальных и клинических исследований указывают на перспективы применения препаратов лития не только в психиатрической практике, но и в неврологии, в первую очередь для профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний. Общеизвестно, что высокодозная терапия карбонатом лития (г/сут) – основа лечения биполярного расстройства. Хорошо изучены молекулярные механизмы действия лития (ингибирование феркиназы-гликоген-синтетазы-3 β и инозитолмонофосфатазы с последующей активацией нейропротекторных и нейротрофических каскадов). Исследования последнего десятилетия сосредоточены на влиянии лития на регуляцию аутофагии, процессы накопления в нейронах патологических белков, таких как β -амилоид и τ -протеин [1].

Фундаментальные исследования и наблюдения за пациентами показали, что нейропротекция ионами лития при ишемии [2] и нейротрофические эффекты при нейродегенерации связаны с повышением уровней нейротрофического фактора мозга (англ. brain-derived neurotrophic factor, BDNF) и нейротрофина-3 (англ. neurotrophin-3, NT-3) в головном мозге [3]. Кроме того, ионы Li⁺ активируют тропомиозин-рецептор киназы B (англ. tropomyosin receptor kinase B, TrkB) фактора роста нервов, усиливая адаптивность нейронов к глутаматному стрессу [4]. Показана ассоциация дефицита лития с боковым амиотрофическим склерозом [5].

Отдельной научной проблемой является поиск безопасных и эффективных солей лития [1]. По данным фундаментальных исследований, органические соли лития (например, аскорбат лития (LiAsc) или цитрат лития) эффективно всасываются нейронами и позволяют поддерживать устойчивые уровни Li⁺ в биосубстратах (в т.ч. в крови и нервной ткани). Нейроцитологические исследования, в частности, продемонстрировали адаптогенное действие LiAsc на нейроны в условиях глутаматного стресса *in vitro* при отсутствии таковых у карбоната лития [6].

Цель – изучить влияние LiAsc и карбоната лития в различных дозах *per os* на выраженность и тяжесть течения у крыс первично-генерализованных судорог, вызванных тиосемикарбазидом *in vivo*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIAL AND METHODS

Группы животных / Animal groups

Исследование проведено на 30 белых крысах-самцах линии Вистар массой 200–300 г. Крысы получены в Питомнике лабораторных животных «Белый мох» Научного центра биомедицинских технологий Российской академии медицинских наук (Московская обл., Электрогорск). Эксперименты проводились на базе кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Животные были разделены на пять групп:

– 1-я группа (n=6) – контроль с воспроизведением первично-генерализованных судорог [7];

– 2-я группа (n=6) получала карбонат лития в дозе 5 мг/кг массы крысы в сутки *per os* внутривнутривенно;

– в 3-й группе (n=6) вводили LiAsc в дозе 5 мг/кг/сут зондированием *per os*;

– в 4-й группе (n=6) вводили LiAsc в дозе 10 мг/кг/сут зондированием *per os*;

– в 5-й группе (n=6) вводили LiAsc в дозе 15 мг/кг/сут зондированием *per os*.

Эксперимент проводили в течение 14 сут.

Модель судорог / Seizure model

Как описано ранее в работе [8], для определения про-тивосудорожных свойств веществ воспроизводят экспериментальные модели первично-генерализованной эпилепсии, включающие судороги, вызванные электрическим и химическим воздействием.

В экспериментальных группах модель судорог была воспроизведена внутрибрюшинным введением тиосемикарбазида в дозе 28 мг/кг. При этом во всех группах регистрировали латентное время до первого приступа, количество, характер судорог (вздрагивание, маневный бег, клонические судороги, тонико-клонические судороги с боковым положением, тоническая экстензия и тоническая экстензия, заканчивающаяся гибелью), а также летальность в течение 90 мин.

Патогистологический анализ / Histopathological analysis

Патогистологическое исследование с окраской гематоксилином/эозином и серебром по методу Ниссля проводили на анализаторе изображения BioVision (Австрия) в 10 различных полях зрения, как описано в работе [8]. После краниотомии головной мозг извлекали целиком и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, через 1 сут с помощью фронтальных разрезов выделяли зону прецентральной извилины переднего мозга, мозжечок, ствол головного мозга. Проводку нервной ткани осуществляли по стандартной схеме (обезживание в этиловом спирте, ксилоле) с последующим изготовлением парафиновых блоков. Изготовленные на санном микротоме Microm (Германия) гистологические срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Дубликаты срезов с помощью набора реактивов ООО «БиоВитрум» (Россия) были окрашены по методу Ниссля и импрегнированы серебром.

Морфометрическое исследование гистологических срезов, выполненное на анализаторе изображения BioVision (Австрия), заключалось в подсчете поврежденных нейроцитов пирамидного слоя коры полушарий переднего мозга в 10 различных полях зрения с последующей статистической обработкой результатов. Микрофотографии получены с помощью исследовательского микроскопа Micros (Австрия) и цифровой окулярной камеры DCM900 SCOPE.

Этические аспекты / Ethical aspects

Работа проводилась с соблюдением правил научных исследований и принципов биоэтики. Исследование с использованием животных выполнено в соответствии с при-

казом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Статистический анализ / Statistical analysis

Статистический анализ эффектов проводили в программах Excel (Microsoft, США) и Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Для изученных неврологических параметров выполняли подсчет среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Данные по объему опухолевых узлов и значимости других межгрупповых различий анализировали с помощью критериев Краскелла–Уоллисса и Данна (т.е. p -значения множественного сравнения Краскелла–Уоллисса с поправкой Бонферрони – иначе говоря, критерия Краскелла–Уоллисса для оценки статистической достоверности различий медиан трех и более независимых групп с последующим применением теста Данна). Различия полагали достоверными на уровне значимости 0,05. Дозозависимость воздействия LiAsc оценивали посредством линейной аппроксимации соответствующих показателей.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Влияние различных дозировок на показатели судорог / Dose-dependent effect on seizure parameters

У всех животных была воспроизведена тиосемикарбазидная модель первично-генерализованных судорог,

характерными признаками которых являлись нерегулярные, но частые вздрагивания, спорадический бег по манежу, частые тонико-клонические судороги (табл. 1).

Несмотря на то что карбонат лития достоверно снижал степень выраженности с точки зрения их длительности ($p=0,018$), это было единственное достоверное наблюдение при сравнении с группой контроля. В то же время LiAsc в дозе 5 мг/кг/сут стимулировал повышение латентного периода (+5 мин; $p=0,024$) и снижал длительность судорог (–7 мин; $p=0,011$). При повышении дозы до 10 или 15 мг/кг/сут наблюдались не только значимое увеличение латентного периода до судорог (+5 мин; $p=0,03$) и снижение длительности приступов (–12 мин; $p=0,0011$), но и достоверное снижение числа судорожных приступов (–1; $p<0,05$) и количества животных с признаком «тоническая экстензия» (33%, контроль – 100%; $p=0,01$) (рис. 1).

Показан дозозависимый эффект LiAsc на встречаемость тонической экстензии в тиосемикарбазидной модели: частота данного признака достоверно отличалась между группами, получавшими LiAsc в дозах 5 и 10 мг/кг/сут: 83% и 33% соответственно ($p=0,04$) (рис. 2).

Таким образом, использование 10–15 мг/кг/сут LiAsc статистически значимо не только уменьшало длительность судорог ($p=0,01$), но и увеличивало латентный период до их наступления ($p=0,03$), снижало число приступов ($p<0,05$) и частоту встречаемости тонической экстензии ($p=0,01$). Результаты исследования указывают на то, что доза LiAsc 10 мг/кг/сут является достаточной для снижения неврологического дефицита при

Таблица 1. Результаты исследования влияния карбоната и аскорбата лития в различных дозировках на показатели судорог, вызванных тиосемикарбазидом

Table 1. Dose-dependent lithium carbonate and lithium ascorbate effects on thiosemicarbazide-induced seizures parameters

Параметр / Parameter	Контроль / Control	Карбонат лития / Lithium carbonate	Аскорбат лития / Lithium ascorbate		
			5 мг/кг // 5 mg/kg	10 мг/кг // 10 mg/kg	15 мг/кг // 15 mg/kg
Латентный период до судорог, мин / Latent period before seizures, min	54±6	57±4	60±5*	60±5**	58±4*
Количество судорожных приступов, n / Number of seizures, n	5±1	6±1	4±2	4±1*	3±1***
Время гибели, мин / Time of death, min	75±10	76±7	72±4	76±8	76±3
Вздрагивание, % / Startles, %	86±36	100±0	100±0	100±0	100±0
Манежный «дикий» бег, % / Circus wild movement, %	93±27	67±52	100±0	83±41	83±41
Клонические судороги, % / Clonic seizures, %	86±36	83±41	100±0	100±0	83±41
Тонико-клонические судороги с боковым положением, % / Tonic-clonic seizures with lateral position, %	100±0	67±52	67±52	67±52	67±52
Тоническая экстензия, % / Tonic extension, %	100±0	83±41	83±41	33±52**/****	50±55*
Тоническая экстензия, заканчивающаяся гибелью, % / Tonic extension followed by death, %	36±50	50±55	67±52	50±55	33±52
Длительность судорог, мин / Seizure duration, min	18±10	11±2**	8±3***	6±3***	6±3***

Примечание. Процентные показатели означают долю животных с данным признаком в соответствующей группе.

* $p<0,05$ по сравнению с контролем. ** $p<0,01$ по сравнению с контролем. *** $p<0,001$ по сравнению с контролем. **** $p<0,05$ по сравнению с группой аскорбата лития в дозе 5 мг/кг.

Note. Proportion of group animals with a specific sign is presented as percentage. * $p<0,05$ compared with control. ** $p<0,01$ compared with control. *** $p<0,001$ compared with control. **** $p<0,05$ compared with lithium ascorbate at dose of 5 mg/kg.

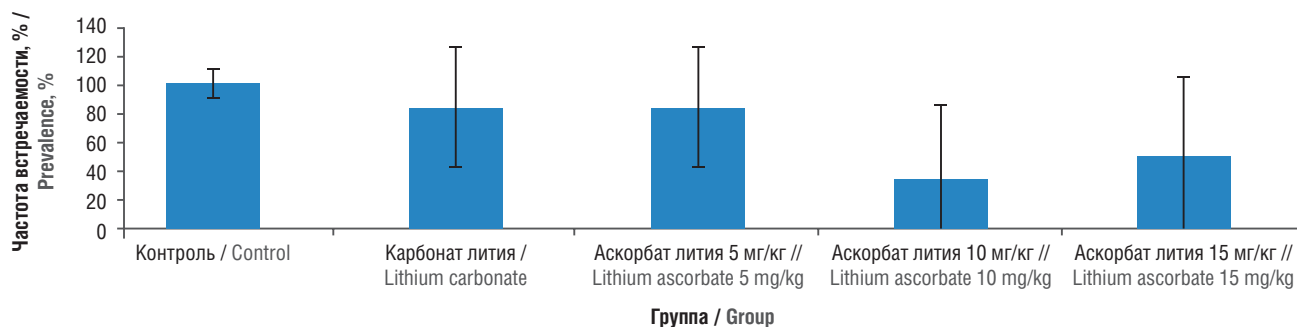


Рисунок 1. Частота встречаемости признака «тоническая экстензия» в группах сравнения

Figure 1. Prevalence of tonic extension in comparison groups

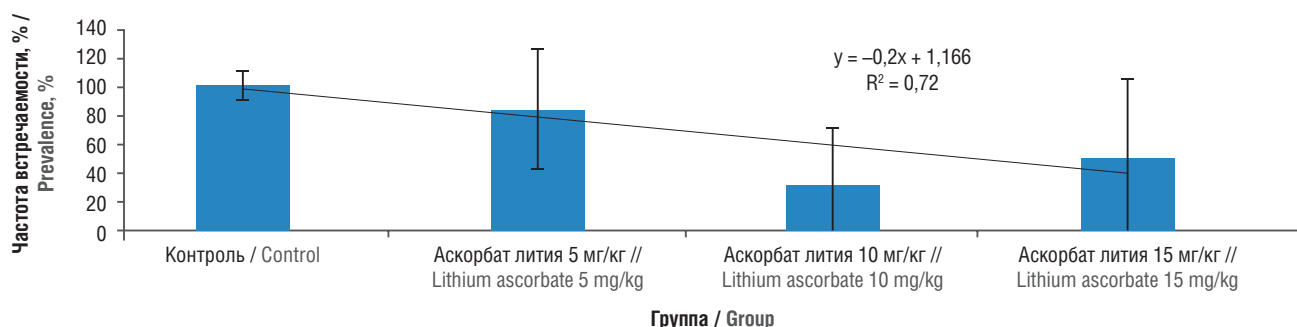


Рисунок 2. Дозозависимый эффект аскорбата лития на проявление признака «тоническая экстензия». Формула, приведенная на рисунке, описывает результат линейной аппроксимации и количественно характеризует установленный дозозависимый эффект

Figure 2. Dose-dependent effect of lithium ascorbate on tonic extension manifestation. The formula shown in the figure describes the linear approximation result and quantitatively characterizes the established dose-dependent effect

воспроизведении модели тиосемикарбазидных судорог. Этот вывод подтверждается данными патогистологического исследования образцов головного мозга.

Патогистологический анализ / Histopathological analysis

Воспроизведение тиосемикарбазидной модели в контрольной группе сопровождалось дисциркуляцией крови (гемостаз, периваскулярный отек, тромбоз) в нервной ткани (рис. 3а, 3б). В условиях нарушения проницаемости сосудистой стенки в 4 случаях контрольной группы наблюдались мелкоочаговые паренхиматозные кровоизлияния в ствол и белом веществе больших полушарий (рис. 3с), а также в 1 случае – очаговое субарахноидальное кровоизлияние (рис. 3д).

При воспроизведении модели установлено ишемически-токсическое повреждение коры головного мозга (особенно в полушарной зоне) с элементами нейродегенерации (набухание и деструкция миелина). Оно характеризовалось набуханием тела и аксона нейронов, исчезновением грануляции по Ниссля, размытием контуров клеточного ядра (рис. 4а), некрозом и нейрофагией (рис. 4б), пикнозом нейронов и клеток глии (рис. 4с). Для набухания миелиновых волокон была характерна визуально обнаруживаемая неравномерность в распределении слоя миелина, которая сопровождалась своего рода утолщениями по типу «варикоз» (рис. 4д).

Карбонат лития не способствовал существенному снижению дисциркуляции крови: как и в контроле, во всех наблюдениях часто отмечались гемостаз, тромбы, отеки серого и белого вещества на фоне диапедезных кровоизлияний (рис. 5а), набухание нейроцитов, размытие контуров ядра (рис. 5б), пикноз, гипертрофия астроцитов (рис. 5с) и, опять же, крайне выраженные нарушения в распределении миелина (рис. 5д).

В группе, получавшей LiAsc в дозе 5 мг/кг, наблюдался судорожный синдром артериол и снижение степени гемостаза капилляров до диффузно-очаговой. Важно отметить венозное полнокровие, умеренную степень отека серого и белого вещества, умеренное размытие контура ядра и снижение набухания аксонов (рис. 6а). Макроглиальная реакция нервной ткани была минимальной (отек), а нарушения структуры миелина сводились к локальной фрагментации (рис. 6б).

Применение LiAsc в более высоких дозах (10 и 15 мг/кг) способствовало дальнейшему сокращению негативных тенденций, наблюдаемых в контроле и снижавшихся при низкой дозе LiAsc: отдельные нарушения микроциркуляторного русла нервной ткани (рис. 7а), слабый отек, токсические повреждения нейронов отмечены только для отдельных клеток в ткани, поддерживалась целостность клеточного ядра (рис. 7б), наблюдались единичные случаи демиелинизации нервных пучков, которые характеризовались четкими границами (рис. 7с).

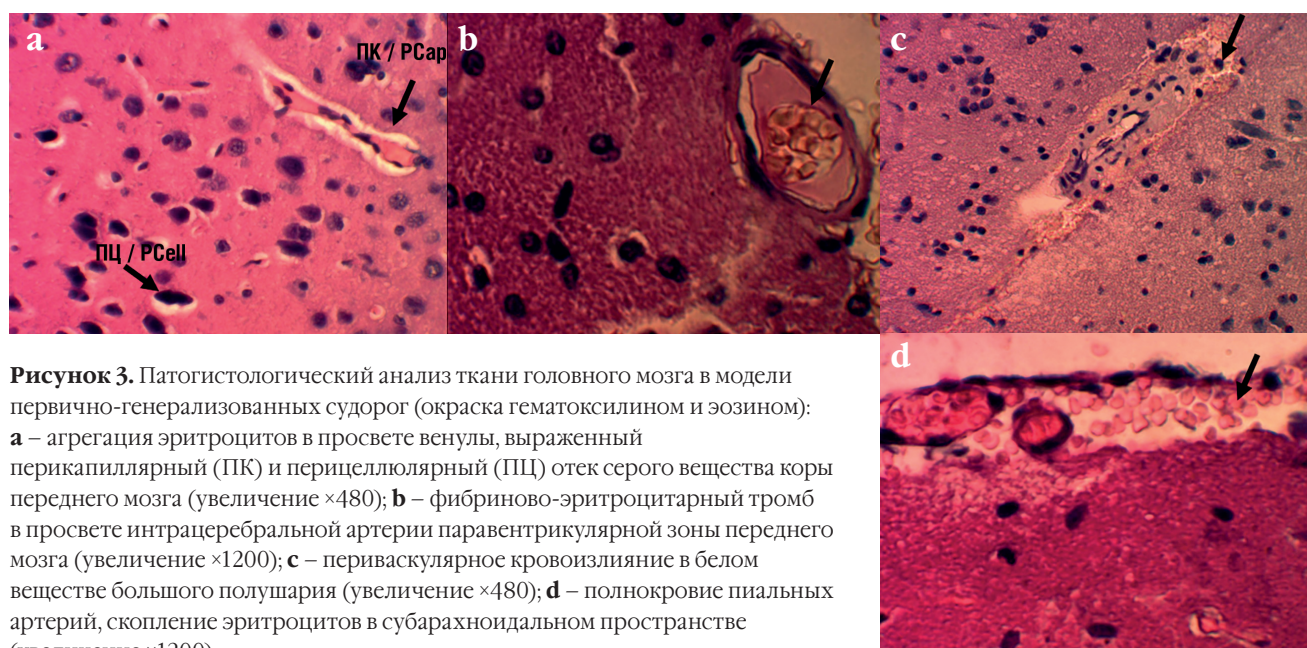


Рисунок 3. Патогистологический анализ ткани головного мозга в модели первично-генерализованных судорог (окраска гематоксилином и эозином): **а** – агрегация эритроцитов в просвете вены, выраженный перикапиллярный (ПК) и перичеселлюлярный (ПЦ) отек серого вещества коры переднего мозга (увеличение $\times 480$); **б** – фибриново-эритроцитарный тромб в просвете интрацеребральной артерии паравентрикулярной зоны переднего мозга (увеличение $\times 1200$); **с** – периваскулярное кровоизлияние в белом веществе большого полушария (увеличение $\times 480$); **д** – полнокровие пиальных артерий, скопление эритроцитов в субарахноидальном пространстве (увеличение $\times 1200$)

Figure. 3. Histopathological analysis of brain tissue in primary generalized seizure model (hematoxylin and eosin staining): **a** – aggregation of erythrocytes in venular lumen, prominent pericapillary (PCap) and pericellular (PCell) edema of the forebrain cortical gray matter (magnification $\times 480$); **b** – fibrin-erythrocyte thrombus in intracerebral arterial lumen of the forebrain paraventricular zone (magnification $\times 1200$); **c** – perivascular hemorrhage in the white matter of the cerebral hemisphere (magnification $\times 480$); **d** – congestion of the pial arteries, red blood cells accumulated in the subarachnoid space (magnification $\times 1200$)

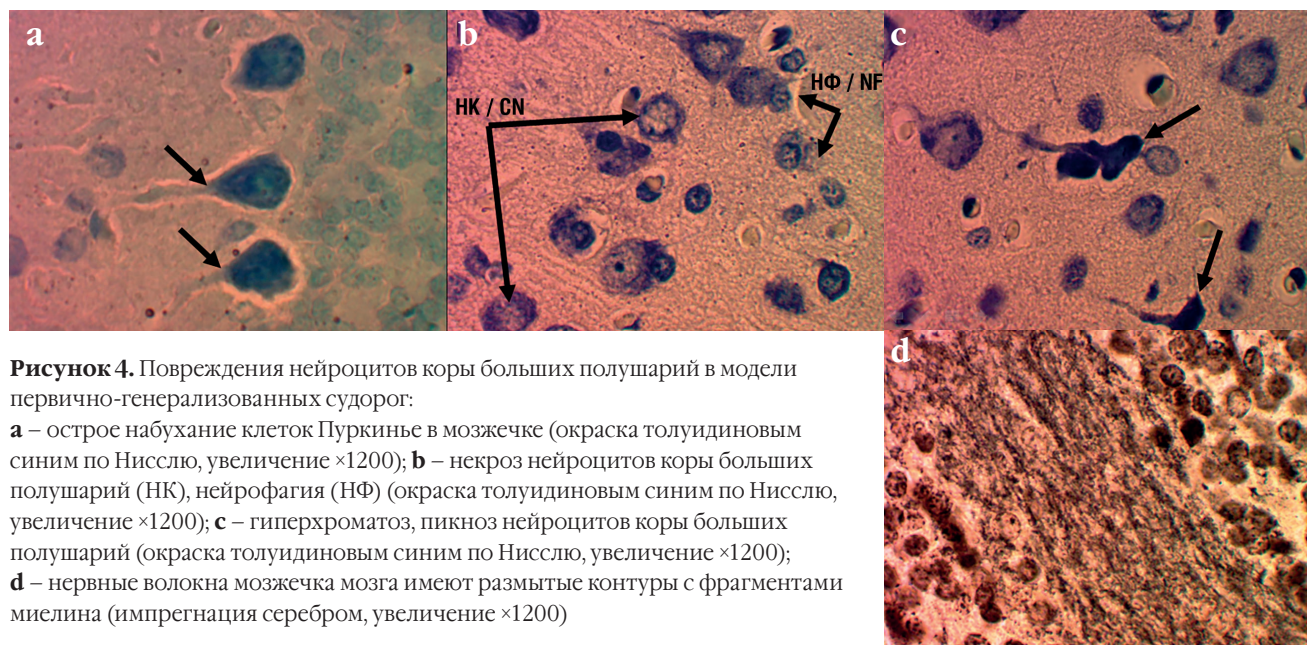


Рисунок 4. Повреждения нейроцитов коры больших полушарий в модели первично-генерализованных судорог: **а** – острое набухание клеток Пуркинье в мозжечке (окраска толуидиновым синим по Нисслю, увеличение $\times 1200$); **б** – некроз нейроцитов коры больших полушарий (НК), нейрофагия (НФ) (окраска толуидиновым синим по Нисслю, увеличение $\times 1200$); **с** – гиперхроматоз, пикноз нейроцитов коры больших полушарий (окраска толуидиновым синим по Нисслю, увеличение $\times 1200$); **д** – нервные волокна мозжечка имеют размытые контуры с фрагментами миелина (импрегнация серебром, увеличение $\times 1200$)

Figure. 4. Cerebral cortical neurocyte injury in primary generalized seizure model: **a** – acute swelling of cerebellar Purkinje cells (Nissl toluidine blue staining, magnification $\times 1200$); **b** – cerebral cortical neurocyte necrosis (CN), neurophagia (NF) (Nissl toluidine blue staining, magnification $\times 1200$); **c** – hyperchromatosis, cerebral cortical neurocyte pyknosis (Nissl toluidine blue staining, magnification $\times 1200$); **d** – cerebellar nerve fibers with blurred contours and myelin fragments (silver impregnation, magnification $\times 1200$)

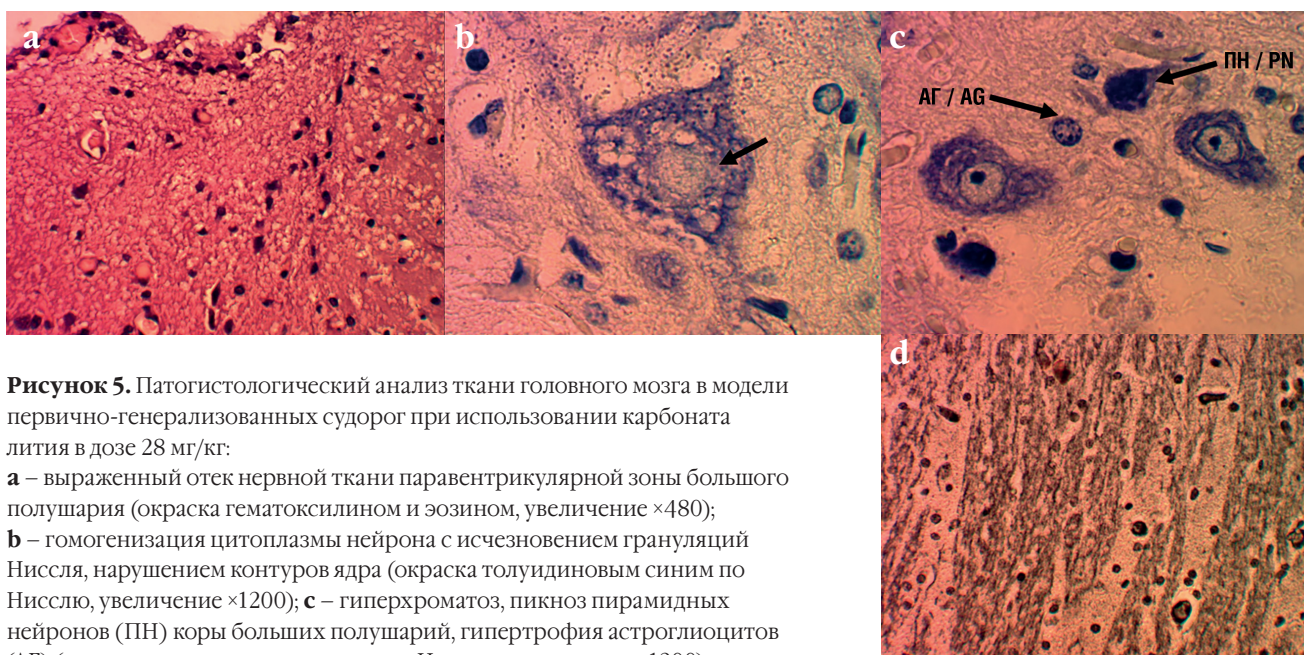


Рисунок 5. Патогистологический анализ ткани головного мозга в модели первично-генерализованных судорог при использовании карбоната лития в дозе 28 мг/кг:

a – выраженный отек нервной ткани паравентрикулярной зоны большого полушария (окраска гематоксилином и эозином, увеличение ×480); **b** – гомогенизация цитоплазмы нейрона с исчезновением грануляций Ниссля, нарушением контуров ядра (окраска толуидиновым синим по Нисслю, увеличение ×1200); **c** – гиперхроматоз, пикноз пирамидных нейронов (ПН) коры больших полушарий, гипертрофия астроглиоцитов (АГ) (окраска толуидиновым синим по Нисслю, увеличение ×1200); **d** – демиелинизация комиссуральных волокон большого полушария головного мозга (импрегнация серебром, увеличение ×1200)

Figure 5. Histopathological analysis of brain tissue in primary generalized seizure model using lithium carbonate at dose of 28 mg/kg:

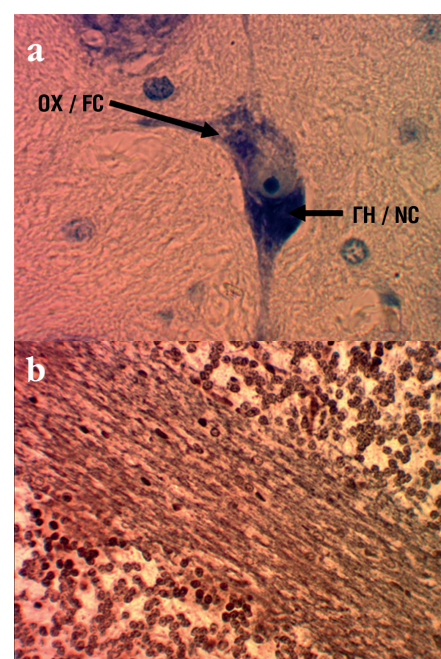
a – severe nervous tissue swelling of cerebral hemisphere paraventricular zone (hematoxylin and eosin staining, magnification ×480); **b** – neuron cytoplasm homogenization with the disappearance of Nissl granulations and disrupted nuclear contours (Nissl toluidine blue staining, magnification ×1200); **c** – hyperchromatosis, pyknosis of cerebral cortical pyramidal neurons (PN), astroglial hypertrophy (AG) (Nissl toluidine blue staining, magnification ×1200); **d** – demyelination of cerebral hemisphere commissural fibers (silver impregnation, magnification ×1200)

Рисунок 6. Патогистологический анализ ткани головного мозга в модели первично-генерализованных судорог при использовании аскорбата лития в дозе 5 мг/кг:

a – агрегация эритроцитов в просвете венулы, выраженный очаговый хроматолиз (ОХ), слияния глыбок Ниссля (ГН) в цитоплазме пирамидной клетки коры больших полушарий (окраска толуидиновым синим по Нисслю, увеличение ×1200); **b** – контуры нервных волокон мозжечка четкие, с очаговой фрагментацией миелиновой оболочки (импрегнация серебром, увеличение ×480)

Figure 6. Histopathological analysis of brain tissue in primary generalized seizure model using lithium ascorbate at dose of 5 mg/kg:

a – aggregation of erythrocytes in venular lumen, prominent focal chromatolysis (FC), fusion of Nissl clumps (NC) in pyramidal cell cytoplasm of the cerebral cortex (Nissl toluidine blue staining, magnification ×1200); **b** – clear contours of cerebellar nerve fibers with focal myelin sheath fragmentation (silver impregnation, magnification ×480)



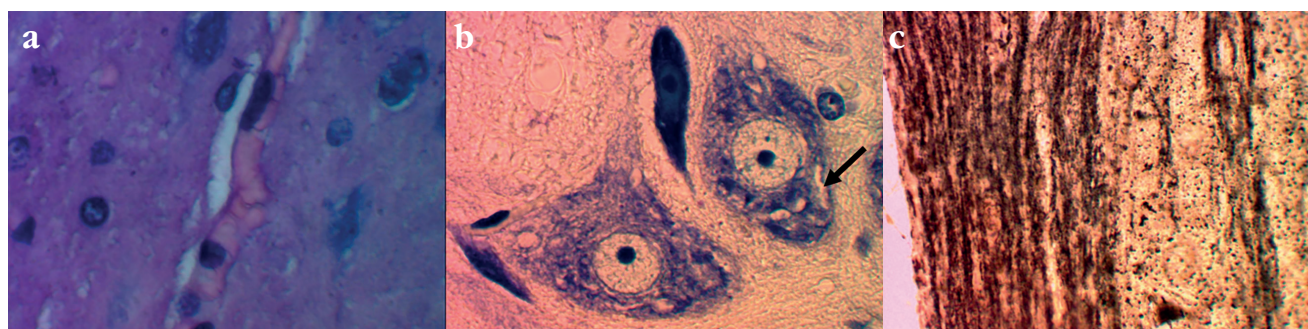


Рисунок 7. Патогистологический анализ ткани головного мозга в модели первично-генерализованных судорог при использовании аскорбата лития в дозе 10 мг/кг:

а – стаз эритроцитов в капилляре, слабовыраженный перикапиллярный отек белого вещества большого полушария (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 1200$); **б** – диффузно-очаговый хроматоз цитоплазмы, структура ядра не изменена (окраска толuidиновым синим по Нисслю, увеличение $\times 1200$); **с** – комиссуральные волокна большого полушария равномерно окрашены (импрегнация серебром, увеличение $\times 1200$)

Figure 7. Histopathological analysis of brain tissue in primary generalized seizure model using lithium ascorbate at dose of 10 mg/kg; **a** – stasis of erythrocytes in the capillary, mild pericapillary edema of cerebral hemisphere white matter (hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 1200$); **b** – diffuse focal cytoplasm chromatolysis, nuclear structure is unchanged (Nissl toluidine blue staining, magnification $\times 1200$); **c** – uniformly colored cerebral hemisphere commissural fibers (silver impregnation, magnification $\times 1200$)

Результаты морфометрического анализа количественно подтверждают описанные выше качественные наблюдения (табл. 2). И карбонат лития, и LiAsc в исследованных дозировках вызывают увеличение числа неповрежденных нейронов (на 10–20%). Однако применение карбоната лития не приводит к сколько-нибудь заметному снижению частоты встречаемости необратимых изменений нейронов, а введение LiAsc способствует уменьшению числа наблюдаемых необратимых изменений в среднем на 6,8% и увеличению числа неповрежденных нейронов на 10%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ / CONCLUSION

В экспериментальной фармакологии противосудорожная активность химических соединений наиболее ярко проявляется на моделях генерализованной эпилепсии, создаваемых у животных при введении конвульсантов (стрихнин, тиосемикарбазид, коразол, бикукуллин, бемеGRID, пикротоксин и др.).

Тиосемикарбазидная модель судорог содержит элементы, характерные и для ишемического, и для нейро-

дегенеративного повреждения нервной ткани ствола и больших полушарий мозга. Тиосемикарбазид вызывает обратимые приступы путем модуляции ГАМК¹-ергических синаптических процессов, приводящих к сужению синаптической щели, снижению концентрации ГАМК путем блокирования ГАМК-зависимых хлор-ионных каналов (ХИК). На начальном этапе формирования судорожного ответа тиосемикарбазид модулирует патогенетический паттерн токсического судорожного синдрома, инициируя блокирование ГАМК-зависимых ХИК. Патогенез тиосемикарбазид-зависимых приступов помимо влияния на начальном периоде судорог на ГАМК-трансмиссию впоследствии вовлекает и другие нейромедиаторные системы (модулирующие активность холинергической и дофаминергической нейротрансмиссии), в частности обмен лития с модуляцией каналов для Cl и Li.

Результаты представленного исследования показали дозозависимый эффект LiAsc на неврологические показатели судорог в тиосемикарбазидной модели. Данные гистопатологического анализа позволяют утверждать, что нейропротекторное действие LiAsc имеет гистологическое и морфометрическое подтверждение. Карбонат

Таблица 2. Результаты морфометрического анализа патогистологических образцов головного мозга, %

Table 2. Brain pathohistological samples assessed by morphometric analysis, %

Группа / Group	Неповрежденные нейроны / Intact neurons	Обратимые изменения нейронов / Reversible neuron changes	Необратимые изменения нейронов / Irreversible neuron changes
Контроль / Control	20,7	43,5	35,8
Карбонат лития / Lithium carbonate	31,5	34,7	33,8
Аскорбат лития 5 мг/кг // Lithium ascorbate 5 mg/kg	37,6	32,1	30,3
Аскорбат лития 10 мг/кг // Lithium ascorbate 10 mg/kg	41,6	30,5	27,0

¹ ГАМК – гамма-аминомасляная кислота.

лития не способствовал сохранению структуры нервной ткани при поражении тиосемикарбазидом.

Демиелинизация и другие нарушения структуры нервного волокна были минимальны при нейропротекции LiAsc, в отличие от характерной демиелинизации при использовании карбоната лития (которая, заметим, наблюдалась и в контрольной группе в той же степени выраженности). Можно предположить, что применение кар-

боната лития в условиях созданной модели первично-генерализованных приступов оказывает слабозаметный нейропротективный эффект, не обеспечивает сохранность миелиновых волокон и не влияет на уровень расстройства кровообращения. По всей видимости, доза LiAsc 10 мг/кг/сут достаточна для снижения неврологического дефицита при воспроизведении модели тиосемикарбазидных судорог.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гоголева И.В., Громова О.А., Торшин И.Ю. и др. Нейробиологическая роль солей лития. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2022; 122 (11): 17–23. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212211117>.
2. Cimarosti H., Rodnight R., Tavares A., et al. An investigation of the neuroprotective effect of lithium in organotypic slice cultures of rat hippocampus exposed to oxygen and glucose deprivation. *Neurosci Lett*. 2001; 315 (1-2): 33–6. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)02310-2](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)02310-2).
3. Walz J.C., Frey B.N., Andreazza A.C., et al. Effects of lithium and valproate on serum and hippocampal neurotrophin-3 levels in an animal model of mania. *J Psychiatr Res*. 2008; 42 (5): 416–21. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2007.03.005>.
4. Hashimoto R., Takei N., Shimazu K., et al. Lithium induces brain-derived neurotrophic factor and activates TrkB in rodent cortical neurons: an essential step for neuroprotection against glutamate excitotoxicity. *Neuropharmacology*. 2002; 43 (7): 1173–9. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(02\)00217-4](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(02)00217-4).
5. Торшин И.Ю., Громова О.А., Ковражкина Е.А. и др. Интеллектуальный анализ данных о взаимосвязях между микроэлементным составом крови и состоянием пациентов с боковым амиотрофическим склерозом указал на сниженные уровни лития и селена. *Consilium Medicum*. 2017; 19 (9): 88–96.
6. Torshin I.Yu., Gromova O.A., Ostrenko K.S., et al. Lithium ascorbate as a promising neuroprotector: fundamental and experimental studies of an organic lithium salt. *Molecules*. 2022; 27 (7): 2253. <https://doi.org/10.3390/molecules27072253>.
7. Хабриев Р.У. (ред.) Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005: 281–9.
8. Калачева А.Г., Громова О.А., Гришина Т.Р. и др. Изучение эффектов магния оротата на модели первично-генерализованных судорог. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017; 9 (1): 61–6. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2017-1-61-66>.

REFERENCES:

1. Gogoleva I.V., Gromova O.A., Torshin I.Yu., et al. A systematic analysis of neurobiological roles of lithium. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2022; 122 (11): 17–23 (in Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202212211117>.
2. Cimarosti H., Rodnight R., Tavares A., et al. An investigation of the neuroprotective effect of lithium in organotypic slice cultures of rat hippocampus exposed to oxygen and glucose deprivation. *Neurosci Lett*. 2001; 315 (1-2): 33–6. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)02310-2](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)02310-2).
3. Walz J.C., Frey B.N., Andreazza A.C., et al. Effects of lithium and valproate on serum and hippocampal neurotrophin-3 levels in an animal model of mania. *J Psychiatr Res*. 2008; 42 (5): 416–21. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2007.03.005>.
4. Hashimoto R., Takei N., Shimazu K., et al. Lithium induces brain-derived neurotrophic factor and activates TrkB in rodent cortical neurons: an essential step for neuroprotection against glutamate excitotoxicity. *Neuropharmacology*. 2002; 43 (7): 1173–9. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(02\)00217-4](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(02)00217-4).
5. Torshin I.Y., Gromova O.A., Kovrazhkina E.A., et al. Data mining of the interactions between the trace element composition of the blood and the state of the patients with the lateral amyotrophic sclerosis shown lowered levels of lithium and selenium. *Consilium Medicum*. 2017; 19 (9): 88–96 (in Russ.).
6. Torshin I.Yu., Gromova O.A., Ostrenko K.S., et al. Lithium ascorbate as a promising neuroprotector: fundamental and experimental studies of an organic lithium salt. *Molecules*. 2022; 27 (7): 2253. <https://doi.org/10.3390/molecules27072253>.
7. Khabriev R.U. (Ed.) Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moscow: Meditsina; 2005: 281–9 (in Russ.).
8. Kalacheva A.G., Gromova O.A., Grishina T.R., et al. Investigation of the effects of magnesium orotate in a model of primary generalized seizures. *neurologiya, neuropsychiatriya, psikhosomatika / Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017; 9 (1): 61–6 (in Russ.). <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2017-1-61-66>.

Сведения об авторах

Демидов Вадим Игоревич – к.м.н., доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России (Иваново, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1064-8201>; WoS ResearcherID: F-9158-2019; Scopus Author ID: 56806409700.

Калачева Алла Геннадьевна – к.м.н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России (Иваново, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6144-5781>; Scopus Author ID: 55227267300; РИНЦ SPIN-код: 4917-2391.

Богачева Татьяна Евгеньевна – к.м.н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России (Иваново, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-4886>; Scopus Author ID: 57188826213; WoS ResearcherID: F-6787-2019; РИНЦ SPIN-код: 8970-6270. E-mail: tatiana.boga4iova@yandex.ru.

Торшин Иван Юрьевич – к.ф.-м.н., к.х.н., старший научный сотрудник ФИЦ «Информатика и управление» РАН (Москва, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>; WoS ResearcherID: C-7683-2018; Scopus Author ID: 7003300274; РИНЦ SPIN-код: 1375-1114.

Громова Ольга Алексеевна – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ФИЦ «Информатика и управление» РАН (Москва, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; WoS ResearcherID: J-4946-2017; Scopus Author ID: 7003589812; РИНЦ SPIN-код: 6317-9833.

Расташанский Вячеслав Валериевич – аналитик ООО «Нормофарм» (Москва, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-5694-3643>.

About the authors

Vadim I. Demidov – MD, PhD, Associate Professor, Chief of Chair of Pathological Anatomy, Ivanovo State Medical University (Ivanovo, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1064-8201>; WoS ResearcherID: F-9158-2019; Scopus Author ID: 56806409700.

Alla G. Kalacheva – MD, PhD, Associate Professor, Chair of Pharmacology, Ivanovo State Medical (Ivanovo, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6144-5781>; Scopus Author ID: 55227267300; RSCI SPIN-code: 4917-2391.

Tatiana E. Bogacheva – MD, PhD, Associate Professor, Chair of Pharmacology, Ivanovo State Medical University (Ivanovo, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-4886>; Scopus Author ID: 57188826213; WoS ResearcherID: F-6787-2019; RSCI SPIN-code: 8970-6270. E-mail: tatiana.boga4iova@yandex.ru.

Ivan Yu. Torshin – PhD (Phys. Math.), PhD (Chem.), Senior Researcher, Federal Research Center “Computer Science and Control”, RAS (Moscow, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>; WoS ResearcherID: C-7683-2018; Scopus Author ID: 7003300274; RSCI SPIN-code: 1375-1114.

Olga A. Gromova – Dr. Med. Sc., Professor, Leading Researcher, Federal Research Center “Computer Science and Control”, RAS (Moscow, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; WoS ResearcherID: J-4946-2017; Scopus Author ID: 7003589812; RSCI SPIN-code: 6317-9833.

Vyacheslav V. Rastashansky – Analyst, Normofarm LLC (Moscow, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-5694-3643>.