

УДК 616.8-008.64:616-008.853.3:615.214

Для цитирования: Лосенков И.С., Плотников Е.В., Епимахова Е.В., Бойко А.С., Иванова С.А. Влияние органических солей лития на содержание белков Akt/mTOR-сигнального пути в мононуклеарах периферической крови больных биполярным аффективным расстройством. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2021; 3 (112): 30–38. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2021-3\(112\)-30-38](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2021-3(112)-30-38)

## Влияние органических солей лития на содержание белков Akt/mTOR-сигнального пути в мононуклеарах периферической крови больных биполярным аффективным расстройством

Лосенков И.С.<sup>1</sup>, Плотников Е.В.<sup>1,2</sup>, Епимахова Е.В.<sup>1</sup>, Бойко А.С.<sup>1</sup>, Иванова С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук  
Россия, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

<sup>2</sup> Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий  
Национальный исследовательский Томский политехнический университет  
Россия, 634050, Томск, пр. Ленина 30

### РЕЗЮМЕ

В настоящее время ведутся разработка и изучение новых соединений лития с комбинированным цитопротекторным и нормотимическим эффектами. Перспективными в этом отношении являются органические соли лития на основе кислот – метаболитов клеточного энергообмена. Akt/mTOR-сигнальный путь – важное звено в регуляции клеточных функций, в связи с чем изучение эффекта на его активность вновь синтезированных органических солей лития является актуальным направлением с точки зрения понимания механизма их действия. **Цель.** Оценка эффектов карбоната, фумарата, пирувата и сукцината лития на содержание общих и фосфорилированных форм 11 белков Akt/mTOR-сигнального пути в мононуклеарах периферической крови больных биполярным аффективным расстройством (БАР). **Материалы и методы.** Венозная кровь для последующего выделения клеток взята у 12 пациентов с БАР, в том числе 7 женщин и 5 мужчин. Медиана возраста – 48,0 года (37,5-52,0). Полученные мононуклеары инкубировали в течение 24 часов с карбонатом, фумаратом, пируватом либо сукцинатом лития в концентрации 1,2 ммоль/л. Определение общих и фосфо-форм 11 белков Akt/mTOR-сигнального пути в клеточных лизатах проводилось с использованием технологии мультиплексного анализа «Luminex xMAP» на приборе «MAGPIX» (Luminex, США). Статистическая обработка проведена с помощью программы SPSS (версия 20.0). Рассчитывали медиану, первый и третий квартили. Для сравнения количественных переменных использовались критерии Манна-Уитни. **Результаты.** Показано, что пируват лития статистически значимо повышал внутриклеточное содержание общих форм белков GSK-3α и β, Akt, mTOR, PTEN, IRS1, P70S6K, TSC2, а также фосфо-формы P70S6K. При действии пирувата лития на клетки больных выявлено статистически значимое снижение фосфо-форм GSK-3β, Akt и mTOR. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о влиянии пирувата лития на активность Akt/mTOR-сигнального пути в мононуклеарах больных БАР, что может быть одним из вероятных механизмов цитопротекторного действия данного соединения, обнаруженного нами ранее. Результаты исследования могут являться основой для дальнейшего поиска и изучения новых соединений лития с комбинированной цитопротекторной и нормотимической активностью.

**Ключевые слова:** литий, соли лития, периферическая кровь, сигнальный путь, Akt, mTOR, GSK-3, биполярное расстройство.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время существует большое количество лекарственных средств, используемых для психофармакотерапии аффективных расстройств. Новый взгляд на химическую структуру классических препаратов является перспективным направлением в отношении обнаружения их новых терапевтических свойств, помимо собственно психотропного действия. Нормотимик литий ис-

пользуется в клинической психофармакологии вот уже более 70 лет [1], однако его применение ограничено в связи с низкой терапевтической широтой действия и высокой частотой развития побочных эффектов [2]. В настоящее время литий, в частности его карбонатная соль, широко применяется в психиатрической практике для лечения и профилактики биполярного аффективного расстройства (БАР) [3].

Карбонат лития – наиболее часто используемая в клинической психофармакологии химическая форма лития. В этом случае карбонат-анион ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) является биологически пассивным лигандом. Мы предполагаем, что новый класс соединений, образованных в результате замещения  $\text{CO}_3^{2-}$  анионными остатками кислот-клеточных метаболитов, участвующих в энергетическом обмене, будет обладать комбинированным нормотимическим и цитопротекторным эффектами. В соответствии с выдвинутой гипотезой были выбраны следующие кислоты: фумаровая, янтарная (субстраты цикла Кребса) и пировиноградная (предшественник ацетилкофермента А (ацетил-КоА), ключевого клеточного метаболита, участвующего в катаболических и анаболических реакциях). Ранее нами продемонстрированы антиоксидантный [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11], иммуностимулирующий [12] и цитопротекторный [9, 13, 14] эффекты данных солей.

Важным является понимание молекулярных механизмов реализации биологических эффектов предложенных нами органических солей лития. Интересным в этом отношении представляются белки Akt/mTOR-сигнального пути. Данный путь является общим для всех клеток организма и представляет собой комплекс внутриклеточных белков, в основном протеинкиназ, для которых характерна каскадная активация. Следующие вне- и внутриклеточные регуляторные стимулы приводят к инициации Akt/mTOR-сигнального пути: факторы роста (инсулин, IGF, GDNF, нейротрофины, цитокины), нутриенты, такие как аминокислоты и различные стрессорные факторы (гипоксия, снижение энергопродукции) [15]. Белки данного пути регулируют следующие универсальные клеточные процессы: синтез белка, аутофагия, углеводный обмен, дифференцировка клеток, клеточный цикл, пролиферация, апоптоз [16].

На сегодняшнее время Akt/mTOR-сигнальный путь рассматривается как перспективная мишень для психотропных препаратов, что обусловлено рядом факторов. Белки данного пути играют важную роль в физиологии нервной ткани: пролиферация и дифференцировка нейральных стволовых клеток (NSCs), миелинизация, рост и формирование аксонов и дендритов, синаптогенез, а также проведение сигнала от нейромедиаторов [17]. Также считается, что Akt/mTOR-сигнальный путь играет роль в патогенезе шизофрении, депрессии и БАР, что подтверждено в ряде исследований животных моделей и биоматериала пациентов [18, 19].

В связи с вышеперечисленным актуальным аспектом нам представляется оценка вовлеченности органических солей лития в работу Akt/mTOR-сигнального пути.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка влияния карбоната, фумарата, пирувата и сукцината лития на содержание белков Akt/mTOR-сигнального пути в мононуклеарах периферической крови больных биполярным аффективным расстройством.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

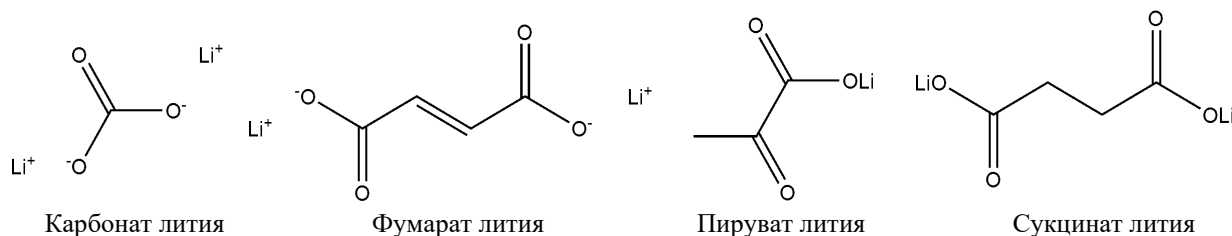
В исследуемую группу вошли 12 пациентов с БАР, проходивших лечение в клинике НИИ психического здоровья Томского НИМЦ РАН, из них 7 женщин и 5 мужчин; медиана возраста: 48,0 года (37,5-52,0). Пациенты имели следующие диагнозы по МКБ-10: 1 человек с эпизодом мании без психотических симптомов (F31.1), 5 – с эпизодом легкой или умеренной депрессии (F31.3), 1 – с эпизодом тяжелой депрессии без психотических симптомов (F31.4), 1 – с эпизодом тяжелой депрессии с психотическими симптомами (F31.5), 4 – с эпизодом смешанного характера (F31.6). Пациенты, принимавшие литий в качестве поддерживающей терапии на момент поступления в стационар, были исключены из исследования. Все участники дали письменное информированное согласие после надлежащего объяснения предполагаемого исследования.

### *Получение клеточной культуры мононуклеаров крови*

Клетки получали из цельной венозной крови, взятой в одноразовые пробирки «Vacutainer» (Becton Dickinson, США) с гепарином натрия в качестве антикоагулянта. Взятие крови производилось в момент поступления пациента в стационар из локтевой вены утром натощак. Выделение мононуклеаров осуществлялось методом центрифугирования на градиенте плотности фиколла ( $\rho=1,077 \text{ г/см}^3$ ; Sigma-Aldrich, Германия). Полученные клетки ресуспендировали в среде RPMI-1640, содержащей 2 ммоль/л L-глутамин (Gibco, США), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США), 25 ммоль/л HEPES (Sigma-Aldrich, Германия) и 50 мкг/мл гентамицина (Sigma-Aldrich, Германия). После приготовления суспензию клеток сразу использовали в эксперименте.

### *Экспериментальные условия*

Для оценки влияния карбоната, фумарата, пирувата и сукцината лития на уровни белков Akt/mTOR-сигнального пути клетки инкубировали с данными соединениями в течение 24 часов при  $37^\circ\text{C}$  и 5%  $\text{CO}_2$ . Концентрация солей в культуральной среде, основанная на конечной концентрации ионов лития, составляла 1,2 ммоль/л. Изучаемые соединения были синтезированы на базе Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий Томского политехнического университета. Их химическая структура представлена на рисунке 1.



Р и с у н о к 1. Химическая структура исследуемых соединений лития

Оценка внутриклеточного содержания белков Akt/mTOR-сигнального пути

Определение исследуемых 11 белков Akt/mTOR-сигнального пути и их фосфорилированных форм производилось по технологии (Luminex, США), ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ). Для оценки уровня общих форм белков использовался набор «MILLIPLEX MAP

Total Akt/mTOR Magnetic Bead 11-Plex Kit» (Merck, Германия). Для оценки уровня фосформ – набор «MILLIPLEX MAP Phosphoprotein Akt/mTOR Magnetic Bead 11-Plex Kit» (Merck, Германия). Для нормализации результатов определялось содержание глицеральдегидфосфатдегидрогеназы (GAPDH). Список исследуемых белков и их функция представлены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1. Исследованные белки и их функции (из Yu J.S. et al., 2016)

Белок	Положение фосфата	Функция
IR (insulin receptor, инсулиновый рецептор)	Тирозин-1162/1163	Взаимодействие с инсулином, активация сигнального белка фосфатадил-инозитол-3-фосфаткиназы (PI3K)
IGF1R (insulin-like growth factor 1, IGF-1 receptor, рецептор инсулиноподобного фактора роста 1)	Тирозин-1135/1136	Взаимодействие с IGF-1, активация PI3K
Протеинкиназа Akt (RAC-alpha, серин-треониновая протеинкиназа)	Серин-473	Сигналинг. Регуляция активности GSK-3, TSC2, транскрипционных факторов
mTOR (mammalian target of rapamycin, мишень рапамицина млекопитающих)	Серин-2448	Сигналинг. Образование белковых комплексов, активирующих Akt, RPS6, транскрипционные факторы
PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, гомолог фосфатазы и тензина, делецированный на хромосоме 10)	Серин-380	Непрямое ингибирование Akt и mTOR через расщепление инозитол-3-фосфата
IRS1 (insulin receptor substrate 1, субстрат инсулинового рецептора 1)	Серин-312	Проведение сигнала от IR, активация PI3K
GSK-3α/β (glycogen synthase kinase 3 alpha/beta, киназа гликогенсинтазы 3 альфа/бета)	Серин-21/серин-9	Регуляция активности (преимущественно негативная) около 100 белков-субстратов
p70S6K (ribosomal protein S6 kinase beta-1, рибосомальная протеинкиназа S6 β-1),	Треонин-412	Активация синтеза белка через фосфорилирование RPS6
RPS6 (ribosomal protein S6, рибосомальный белок S6)	Серин-235/236	Регуляция трансляции на 40S субъединицы рибосомы
TSC2 (tuberous sclerosis complex 2 (tuberin), комплекс туберозного склероза 2 (туберин))	Серин-939	Ограничение роста клеток за счет активации процессов лизосомальной, протеосомальной деградации и убиквитинизации

Для каждого белка в пробе вычислялся показатель средней интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity, MFI). Уровень общей формы конкретного белка и уровень фосфо-формы конкретного белка вычислялись как:

$$\frac{MFI_{\text{общей формы}}}{MFI_{\text{GAPD}}}$$

$$\frac{MFI_{\text{фосфо-формы}}}{MFI_{\text{общей форм}}}$$

Статистическая обработка результатов проведена с помощью программы SPSS (v. 20.0). Рассчитывали медиану, первый и третий квартили. Для сравнения количественных переменных использовались критерии Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Инкубация мононуклеаров больных БАР с карбонатом, фумаратом или сукцинатом лития не привела к статистически значимым изменениям в содержании общих форм исследуемых белков Akt/mTOR-сигнального пути по сравнению с контрольной культурой. Обнаружено, что пируват лития статистически значимо повышал уровень 10 белков по сравнению с интактными клетками ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). По результатам эксперимента, инкубация клеток с солями лития приводила к следующим изменениям содержания фосформ белков: карбонат, сукцинат и фумарат лития не оказывали статистически значимого влияния по сравнению с интактной культурой.

**Т а б л и ц а 2. Содержание [Ме (Q1-Q3)] общих форм белков Akt/mTOR-сигнального пути в мононуклеарах периферической крови больных биполярным аффективным расстройством инкубации с солями лития (критерий Манна-Уитни)**

Белок	Интактные клетки	Карбонат лития	Фумарат лития	Пируват лития	Сукцинат лития
GSK-3 $\beta$	0,19 (0,16-0,31)	0,31 (0,22-0,42) p=0,083	0,33 (0,21-0,57) p=0,050	0,70* (0,48-1,0) p<0,001	0,28 (0,23-0,29) p=0,272
IGF1R	0,07 (0,06-0,13)	0,10 (0,04-0,4) p=0,729	0,04 (0,03-0,13) p=0,356	0,10* (0,04-0,13) p=0,002	0,10 (0,04-0,13) p=0,673
IRS1	0,06 (0,04-0,08)	0,06 (0,05-0,11) p=0,564	0,06 (0,05-0,11) p=0,419	0,17* (0,15-0,30) p=0,003	0,04 (0,04-0,06) p=0,310
Akt	0,07 (0,04-0,10)	0,12 (0,09-0,18) p=0,065	0,16 (0,07-0,25) p=0,057	0,42* (0,17-0,73) p=0,001	0,11 (0,07-0,17) p=0,151
mTOR	0,03 (0,03- 0,04)	0,04 (0,03-0,05) p=0,133	0,05 (0,03-0,06) p=0,065	0,09* (0,07-0,10) p<0,001	0,04 (0,03-0,04) p=0,499
p70S6K	0,40 (0,26-0,74)	0,50 (0,31-0,70) p=0,603	0,64 (0,37-0,73) p=0,488	0,95* (0,66-1,74) p=0,014	0,49 (0,34-0,68) p=0,800
IR	0,04 (0,03-0,05)	0,05 (0,04-0,05) p=0,184	0,05 (0,04-0,07) p=0,356	0,09* (0,08-0,11) p<0,001	0,04 (0,03-0,05) p=0,800
PTEN	1,20, (1,01-2,13)	1,47 (1,08-2,07) p=0,564	1,60 (1,18-2,41) p=0,106	2,99* (1,60-4,71) p=0,003	1,33 (1,09-1,74) p=0,735
GSK-3 $\alpha$	0,41 (0,33-0,79)	0,48 (0,76-0,83) p=0,184	0,74 (0,44-1,25) p=0,106	1,68* (1,0-2,70) p<0,001	0,53 (0,51-0,68) p=0,310
TSC2	0,29 (0,18-0,57)	0,37 (0,22-0,50) p=0,488	0,35 (0,21-0,69) p=0,386	0,95* (0,36-1,49) p=0,031	0,31 (0,27-0,35) p=0,612
RPS6	0,05 (0,04-0,08)	0,06 (0,04-0,09) p=0,488	0,06 (0,03-0,07) p=0,954	0,07 (0,06-0,07) p=0,268	0,06 (0,04-0,07) p=0,673

П р и м е ч а н и е. p – Уровень значимости по сравнению с интактными клетками: \* – p<0,05.

**Т а б л и ц а 3. Содержание [Ме (Q1-Q3)] фосфорилированных форм белков Akt/mTOR-сигнального пути в мононуклеарах периферической крови больных биполярным аффективным расстройством инкубации с солями лития (критерий Манна-Уитни)**

Фосфо-форма	Интактные клетки	Карбонат лития	Фумарат лития	Пируват лития	Сукцинат лития
Фосфо-сер-9-GSK-3 $\beta$	0,15 (0,10-0,17)	0,12 (0,13-0,23) p>0,999	0,15 (0,08-0,19) p=0,734	0,071* (0,05-0,13) p<0,001	0,10 (0,06-0,13) p=0,152
Фосфо-тир-1135/1136-IGF1R	0,07 (0,05-0,05)	0,03 (0,02-0,07) p=0,678	0,04 (0,01-0,05) p=0,734	0,04 (0,03-0,05) p=0,002	0,05 (0,03-0,07) p=0,336
Фосфо-сер-312-IRS1	0,07 (0,05-0,09)	0,10 (0,05-0,19) p=0,384	0,10 (0,04-0,17) p=0,734	0,06 (0,04-0,11) p=0,003	0,15 (0,14-0,22) p=0,094
Фосфо-сер-473-Akt	0,61 (0,25-1,32)	0,20 (0,10-0,40) p=0,122	0,18 (0,13-0,43) p=0,115	0,08* (0,05-0,19) p=0,001	0,41 (0,33-0,61) p=0,955
Фосфо-сер-2448-mTOR	9,81 (5,54-13,15)	3,64, (2,60-27,67) p=0,408	4,84, (2,69-7,23) p=0,088	1,67*, (1,24-2,36) p<0,001	4,39, (1,86-6,48) p=0,097
Фосфо-тир-1162/1163-IR	0,36 (0,33-0,66)	0,85 (0,24-1,48) p=0,606	0,64 (0,36-1,67) p=0,285	0,43 (0,24-0,59) p<0,001	0,72 (0,57-0,96) p=0,38
Фосфо-сер-380-PTEN	0,47 (0,27-0,49)	0,45 (0,31-0,56) p=0,970	0,34 (0,22-0,63) p=0,734	0,30 (0,10-0,32) p=0,003	0,34 (0,21-0,42) p=0,397
Фосфо-сер-21-GSK-3 $\alpha$	0,09 (0,04-0,12)	0,09 (0,06-0,12) p=0,910	0,07 (0,05-0,11) p=0,851	0,03 (0,02-0,07) p<0,001	0,04 (0,03-0,07) p=0,281
Фосфо-сер-939-TSC2	0,18 (0,16-0,20)	0,21 (0,07-0,35) p=0,488	0,11 (0,04-0,30) p=0,492	0,14 (0,04-0,36) p=0,031	0,17 (0,11-0,25) p=0,613
Фосфо-сер-235/236-RPS6	0,20 (0,15-0,58)	0,44 (0,16-0,91) p=0,488	0,55 (0,22-1,16) p=0,135	0,75* (0,43-1,02) p=0,010	0,39 (0,30-0,39) p=0,876

П р и м е ч а н и е. p – Уровень значимости по сравнению с интактными клетками: \* – p<0,01.

Как показано в таблице 3, инкубация с пируватом лития привела к значительному изменению концентрации фосфо-форм 4 белков по сравнению с контрольными значениями: GSK-3 $\beta$ : 0,067 (0,053-0,13) и 0,16 (0,10-0,17) соответственно ( $p=0,009$ ); Akt: 0,084 (0,053-0,19) и 0,61 (0,25-1,32) соответственно ( $p=0,009$ ); mTOR: 1,67 (1,24-2,36) и 9,81 (5,54-13,15) соответственно ( $p=0,014$ ); RPS6: 0,76 (0,43-1,02) и 0,20 (0,15-0,58) соответственно ( $p=0,010$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, в результате исследования было обнаружено, что пируват лития повышал содержание 10 общих форм белков Akt/mTOR-сигнального пути, но при этом одновременно уменьшая содержание фосфо-форм Akt, GSK-3 $\beta$  и mTOR в мононуклеарах больных БАР. Инкубация клеток с данной солью также приводила к увеличению уровня фосфо-формы RPS6. Однако в соответствии с полученными данными нельзя сделать однозначного заключения о направленности влияния пирувата лития на активность Akt/mTOR-сигнального пути. С одной стороны, наблюдается снижение активных фосфо-форм ключевых сигнальных белков данного пути (Akt и mTOR), обеспечивающих взаимосвязь мембранных рецепторов клетки (в нашем исследовании – IR и IGF1R) с регуляторными (GSK-3 $\alpha$  и  $\beta$ ) и «эффекторными» белками (p70S6K, RPS6, TSC2), непосредственно действующими на клеточные процессы. С другой стороны, при действии пирувата в течение 24 часов в мононуклеарах регистрируется повышение уровня 10 из 11 общих форм исследуемых белков.

По итоговым результатам карбонат, фумарат и сукцинат лития не оказывали статистически значимого влияния на содержание общих и фосфо-форм изучаемых белков Akt/mTOR-сигнального пути. Можно сделать вывод, что в данной экспериментальной модели как ионы лития, так и кислотные остатки фумаровой и янтарной кислот не имеют собственного эффекта.

Таким образом, единственным биоактивным лигандом в нашем исследовании является остаток пировиноградной кислоты – пируват. Данное соединение является ключевым клеточным метаболитом, образующимся из глюкозы в ходе гликолиза, а затем в присутствии пируватдегидрогеназы преобразующимся в ацетил-КоА. Т.е. ацетил-КоА служит субстратом для цитрата – первого компонента цикла Кребса, который необходим для производства АТФ в митохондриях. Вместе с тем ацетил-КоА участвует в синтезе жирных кислот и холестерина, а также в ацетилировании белков [20]. Повышение содержания изученных нами белков при действии пирувата на клетки может быть объяснено связью процессов энерго-

обмена и активностью Akt/mTOR-сигнального пути. Известно, что белки данного пути, в частности Akt и GSK-3, регулируют углеводный обмен, а снижение активности Akt и, как следствие, активация GSK-3 приводит к подавлению синтеза гликогена и транспорта глюкозы в клетку [21]. Дополнительная стимуляция пируватом процессов цикла Кребса и, как следствие, конечное аэробное расщепление глюкозы с образованием АТФ по принципу отрицательной обратной связи может снижать активность Akt и mTOR, а также повышать активность GSK-3 через её дефосфорилирование [22]. Данный процесс может служить объяснением обнаруженного нами пониженного содержания фосфо-форм данных белков в клетках после инкубации с пируватом лития. Повышение 10 общих форм белков может быть следствием индукции экспрессии их генов. Как видно из таблицы 1, часть из них вовлечена в белковый обмен: RPS6, p70S6K, TSC2. Вероятно, что повышение продукции АТФ в результате увеличения концентрации пирувата способно инициировать клетку для анаболических процессов через Akt/mTOR-сигнальный путь. Подобная индукция активности, в частности mTOR, субстратами белкового синтеза показана в ряде исследований [22, 23].

Ранее нами описан цитопротекторный эффект пирувата лития в отношении мононуклеаров периферической крови лиц группы контроля, больных алкогольной зависимостью [9] и пациентов с депрессивными расстройствами и БАР (неопубликованные данные). Способность данного соединения влиять на Akt/mTOR-сигнальный путь, обнаруженная в данном исследовании, может быть одним из механизмов этого эффекта.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют о влиянии пирувата лития на активность Akt/mTOR-сигнального пути в мононуклеарах больных БАР. Результаты исследования помогут расширить представление о потенциальных молекулярных механизмах действия соединений лития на основе органических кислот-метаболитов клеточного энергообмена, а также определить перспективу для дальнейшего их изучения в качестве новых потенциальных нормотимиков комбинированного действия.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в связи с публикацией данной статьи.

### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-20045) «Действие органических солей лития на клетки и плазму крови больных с расстройствами аффективного спектра и синдромом зависимости».

**СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ**

Исследование проведено в соответствии с Международным кодексом медицинской этики Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинкская декларация 1964 г., пересмотр 2013 г.) и одобрено этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 361 от 23.10.2017 г.).

**ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES**

1. Cade JF. Lithium salts in the treatment of psychotic excitement. *Med J Aust.* 1949 Sep 3;2(10):349-52. doi: 10.1080/j.1440-1614.1999.06241.x. PMID: 18142718.
2. Лосенков И.С., Плотников Е.В., Епимахова Е.В., Бохан Н.А. Литий в психофармакологии аффективных расстройств и механизмы его эффектов на клеточную физиологию. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020. № 11 (120). С. 108-115. Losenkov IS, Plotnikov EV, Epimakhova EV, Bokhan NA. Lithium in the psychopharmacology of affective disorders and the mechanisms of its effects on cellular physiology. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry* 2020;11(120):108-115 (in Russian) doi: 10.17116/jnevro2020120111108.
3. Goodwin GM, Haddad PM, Ferrier IN, Aronson JK, Barnes T, Cipriani A, Coghill DR, Fazel S, Geddes JR, Grunze H, Holmes EA, Howes O, Hudson S, Hunt N, Jones I, Macmillan IC, McAllister-Williams H, Miklowitz DR, Morriss R, Munafò M, Paton C, Saharkian BJ, Saunders K, Sinclair J, Taylor D, Vieta E, Young AH. Evidence-based guidelines for treating bipolar disorder: Revised third edition recommendations from the British Association for Psychopharmacology. *J Psychopharmacol.* 2016 Jun;30(6):495-553. doi: 10.1177/0269881116636545. Epub 2016 Mar 15. PMID: 26979387; PMCID: PMC4922419.
4. Plotnikov E, Korotkova E, Voronova O, Dorozhko E, Bohan N, Plotnikov S Lithium-based antioxidants: electrochemical properties and influence on immune cells. *Physiology and Pharmacology.* 2015; 19(2):107-113.
5. Plotnikov E, Korotkova E, Voronova O, Sazhina N, Petrova E, Artamonov A, Chernyavskaya L, Dorozhko E. Comparative investigation of antioxidant activity of human serum blood by amperometric, voltammetric and chemiluminescent methods. *Arch Med Sci.* 2016 Oct 1;12(5):1071-1076. doi: 10.5114/aoms.2015.50234. Epub 2015 Mar 26. PMID: 27695499; PMCID: PMC5016571.
6. Plotnikov E, Voronova O, Linert W, Martemianov D, Korotkova E, Dorozhko E, Astashkina A, Martemianova I, Ivanova S, Bokhan N Antioxidant and immunotropic properties of some lithium salts. *J. App. Pharm. Sci.* 2016;6(1):86-89. doi: 10.7324/JAPS.2016.600115.
7. Plotnikov E, Prokopieva V, Yarygina E, Losenkov I. Lithium ascorbate as a protector of human blood biomolecules under ethanol impact. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology.* 2018; 8(1):82-86. doi: 10.5455/njppp.2018.8.0935812102017
8. Sazhina N, Plotnikov E, Korotkova E, Dorozhko E, Voronova O. Electrochemical Oxidability of Antioxidants: Synergism and Antagonism in Mixes. *J Pharm Bioallied Sci.* 2018 Apr-Jun;10(2):60-65. doi: 10.4103/JPBS.JPBS\_203\_17. PMID: 29962793; PMCID: PMC5998696.
9. Plotnikov E, Losenkov I, Epimakhova E, Bokhan N. Protective Effects of Pyruvic Acid Salt Against Lithium Toxicity and Oxidative Damage in Human Blood Mononuclear Cells. *Adv Pharm Bull.* 2019 Jun;9(2):302-306. doi: 10.15171/apb.2019.035. Epub 2019 Jun 1. PMID: 31380257; PMCID: PMC6664125.
10. Прокопьева В.Д., Ярыгина Е.Г., Плотников Е.В., Ветлугина Т.П. Исследование эффектов солей лития в присутствии этанола на продукт окислительного повреждения ДНК плазмы крови здоровых лиц и больных алкоголизмом. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* 2019. № 1 (102). С. 5-11. Prokopieva VD, Yarygina EG, Plotnikov EV, Vetlugina TP. Study of the effects of lithium salts in the presence of ethanol on the blood plasma product of oxidative DNA damage of healthy persons and alcoholic patients. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry.* 2019;1(102):5-11. https://doi.org/10.26617/1810-3111-2019-1(102)-5-11 (in Russian).
11. Прокопьева В.Д., Ветлугина Т.П., Ярыгина Е.Г., Плотников Е.В., Бохан Н.А. Роль анионного компонента в проявлении эффектов органических солей лития на окислительную модификацию белков и липидов крови больных депрессивными расстройствами. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020. № 2 (64). С. 13-20. Prokopieva VD, Vetlugina TP, Yarygina EG, Plotnikov EV, Bokhan NA. The role of the anionic component in the manifestation of the effects of organic lithium salts on the oxidative modification of proteins and lipids in the blood of patients with depressive disorders. *Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2020;2(64):13-20. doi: 10.25557/0031-2991.2020.02.13-20 (in Russian).
12. Ветлугина Т.П., Савочкина Д.Н., Прокопьева В.Д., Плотников Е.В., Никитина В.Б., Бохан Н.А. Влияние солей лития на экспрессию поверхностных рецепторов лимфоцитов больных алкоголизмом в опытах in vitro. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2019. № 2. С. 38-42. Vetlugina TP, Savochkina DN, Prokopieva VD, Plotnikov EV, Nikitina VB, Bokhan NA. The influence of lithium salts on the expression of surface receptors of lymphocytes in patients with alcoholism in vitro experiments. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2019;2:38-42. doi: 10.17513/mjpf.12667 (in Russian).

13. Епи́махова Е.В., Лосенков И.С., Ро́щина О.В., Плотников Е.В. Оценка цитопротекторного и антиоксидантного действия пирувата лития на мононуклеары периферической крови больных алкоголизмом. Вопросы наркологии. 2018. № 12 (171). С. 36-47. Epimakhova EV, Losenkov IS, Roshchina OV, Plotnikov EV. Evaluation of the cytoprotective and antioxidant effect of lithium pyruvate on mononuclear cells of the peripheral blood of patients with alcoholism. Journal of Addiction Problems. 2018;12(171):36-47 (in Russian).
14. Ветлугина Т.П., Прокопьева В.Д., Плотников Е.В., Ярыгина Е.Г., Лебедева В.Ф., Бохан Н.А. Повреждение эритроцитов и макромолекул плазмы крови у больных алкоголизмом и мембранопротекторный эффект солей лития. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2021. № 2 (65). С. 22-29. Vetlugina TP, Prokopenieva VD, Plotnikov EV, Yarygina EG, Lebedeva VF, Bokhan NA. Damage to erythrocytes and blood plasma macromolecules in patients with alcoholism and the membrane-protective effect of lithium salts. Pathological Physiology and Experimental Therapy. 2021;2(65):22-29. doi: 10.25557/0031-2991.2021.02.22-29 (in Russian).
15. Shorning BY, Dass MS, Smalley MJ, Pearson HB. The PI3K-AKT-mTOR Pathway and Prostate Cancer: At the Crossroads of AR, MAPK, and WNT Signaling. Int J Mol Sci. 2020 Jun 25;21(12):4507. doi: 10.3390/ijms21124507. PMID: 32630372; PMCID: PMC7350257.
16. Yu JS, Cui W. Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination. Development. 2016 Sep 1;143(17):3050-60. doi: 10.1242/dev.137075. PMID: 27578176.
17. Switon K, Kotulska K, Janusz-Kaminska A, Zmorzynska J, Jaworski J. Molecular neurobiology of mTOR. Neuroscience. 2017 Jan 26;341:112-153. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.11.017. Epub 2016 Nov 23. PMID: 27889578.
18. Losenkov IS, Ivanova SA, Vyalova NA, Simutkin GG, Bokhan NA. Proteins of the Akt1/GSK-3 beta signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells of patients with affective disorders. Neurochemical Journal. 2014;3(31):240-245. doi: 10.1134/S1819712414030106
19. Ryskalin L, Limanaqi F, Frati A, Busceti CL, Fornai F. mTOR-Related Brain Dysfunctions in Neuropsychiatric Disorders. Int J Mol Sci. 2018 Jul 30;19(8):2226. doi: 10.3390/ijms19082226. PMID: 30061532; PMCID: PMC6121884.
20. Nelson DL, Cox MM. Lehninger principles of biochemistry. Seventh edition. New York: WH Freeman, 2017:1320.
21. Иванова С.А., Лосенков И.С., Бохан Н.А. Роль киназы гликогенсинтазы-3β в патогенезе психических расстройств. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2014. № 6 (114). С. 70-76. Ivanova S.A., Losenkov I.S., Bokhan N.A. The role of glycogen synthase-3β kinase in the pathogenesis of mental disorders. S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2014;6(114):70-76 (in Russian)
22. Jewell JL, Kim YC, Russell RC, Yu FX, Park HW, Plouffe SW, Tagliabracci VS, Guan KL. Metabolism. Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine. Science. 2015 Jan 9;347(6218):194-8. doi: 10.1126/science.1259472. Epub 2015 Jan 7. PMID: 25567907; PMCID: PMC4384888.
23. Carroll B, Maetzel D, Maddocks OD, Otten G, Ratcliff M, Smith GR, Dunlop EA, Passos JF, Davies OR, Jaenisch R, Tee AR, Sarkar S, Korolchuk VI. Control of TSC2-Rheb signaling axis by arginine regulates mTORC1 activity. Elife. 2016 Jan 7;5:e11058. doi: 10.7554/eLife.11058. PMID: 26742086; PMCID: PMC4764560.

Поступила в редакцию 4.08.2021  
Утверждена к печати 6.09.2021

Лосенков Иннокентий Сергеевич, к.м.н., научный сотрудник отделения аффективных состояний НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН (Томск, Россия). ResearcherID N-2144-2016. Scopus Author ID 56300031600. ORCID iD 0000-0001-7458-2179.

Плотников Евгений Владимирович, к.х.н., доцент Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий, Национальный исследовательский Томский политехнический университет (Томск, Россия). plotnikov.e@mail.ru. ResearcherID F-8333-2017. Scopus Author ID 56432612900. ORCID iD 0000-0002-4374-6422.

Епи́махова Елена Викторовна, к.б.н., научный сотрудник отделения аддиктивных состояний НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН (Томск, Россия). elenazhernova@sibmail.com. ResearcherID J-3122-2017. Scopus Author 57216672615. ORCID iD 0000-0002-9304-4496.

Бойко Анастасия Сергеевна, к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН (Томск, Россия). anastasya-iv@yandex.ru. ResearcherID A-9465-2016. Scopus Author 55695787000. ORCID iD 0000-0002-2955-9057.

Иванова Светлана Александровна, д.м.н., заместитель директора по научной работе НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН (Томск, Россия). ivanovaniipz@gmail.com. ResearcherID C-5333-2012. Scopus Author: 36113599800. ORCID iD 0000-0001-7078-323X.

✉ Лосенков Иннокентий Сергеевич, innokenty86@mail.ru

UDC 616.8-008.64:616-008.853.3:615.214

For citation: Losenkov I.S., Plotnikov E.V., Epimakhova E.V., Boiko A.S., Ivanova S.A. Effect of organic lithium salts on the levels Akt/mTOR-signaling pathway proteins in peripheral blood mononuclear cells of patients with bipolar disorder. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2021; 3 (112): 30–38. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2021-3\(112\)-30-38](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2021-3(112)-30-38)

## Effect of organic lithium salts on the levels Akt/mTOR-signaling pathway proteins in peripheral blood mononuclear cells of patients with bipolar disorder

**Losenkov I.S.<sup>1</sup>, Plotnikov E.V.<sup>1,2</sup>, Epimakhova E.V.<sup>1</sup>,  
Boiko A.S.<sup>1</sup>, Ivanova S.A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences  
Aleutskaya Street 4, 634014, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Research School of Chemistry and Applied Biomedical Sciences, National Research Tomsk Polytechnic University  
Lenin Avenue 30, 634050, Tomsk, Russian Federation

### ABSTRACT

**Introduction.** Nowadays, the development and study of new lithium compounds with combined cytoprotective and mood-stabilizing activity is in the process. In that way organic lithium salts based on acids which are metabolites of cellular energy exchange are promising. The Akt/mTOR-signaling pathway is an important link in the regulation of cellular functions, and therefore the study of the effect of newly synthesized organic lithium salts on its activity is relevant for the understanding of their action mechanism. **Objective.** The effect of lithium carbonate, fumarate, pyruvate and succinate on the content of total and phosphorylated forms of 11 proteins of the Akt/mTOR-signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells of patients with bipolar disorder (BD) was studied. **Material and Methods.** Whole venous blood for subsequent isolation of cells was taken from 12 patients with BD, 7 women and 5 men. Median age was 48.0 years (37.5-52.0). The obtained mononuclear cells were incubated for 24 hours with carbonate, fumarate, pyruvate or lithium succinate at a concentration of 1,2 mmol/l. Assessment of total and phospho-forms of 11 proteins of the Akt/mTOR-signaling pathway in cell lysates was made using «Luminex xMAP» the multiplex technology on the «MAGPIX» multiplex analyzer (Merk, Germany). Statistical analysis was carried out using SPSS software (version 20.0). The median, first and third quartiles were calculated and the Mann-Whitney test was used to compare quantitative variables. **Results.** It was shown that lithium pyruvate significantly heightened the intracellular level of total forms of proteins GSK-3 $\alpha$  and  $\beta$ , Akt, mTOR, PTEN, IRS1, P70S6K, TSC2, as well as phospho-form of P70S6K. Under the action of lithium pyruvate significant decrease in the phospho-forms of GSK-3 $\beta$ , Akt and mTOR was revealed. **Conclusion.** Thus, the data obtained indicated the effect of lithium pyruvate on the activity of the Akt/mTOR-signaling pathway in mononuclear cells of patients with BD, which may be one of the possible mechanisms of the its cytoprotective action, which we revealed earlier. The results could serve as a basis for further search and study of new lithium compounds with combined cytoprotective and/or mood-stabilizing activity.

**Keywords:** lithium, lithium salts, signaling pathway, Akt, mTOR, GSK-3, bipolar disorder.

Received August 04.2021

Accepted September 06.2021

Losenkov Innokentiy S., PhD, researcher, Affective States Department, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. ResearcherID N-2144-2016. Scopus Author ID 56300031600. ORCID iD 0000-0001-7458-2179.

Plotnikov Evgeny V., PhD, associate professor, Research School of Chemical and Biomedical Technologies. National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia; senior researcher, Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. [plotnikov.e@mail.ru](mailto:plotnikov.e@mail.ru). ResearcherID: F-8333-2017. Scopus Author ID 56432612900. ORCID iD 0000-0002-4374-6422.

Epimakhova Elena V., PhD, researcher, Addictive States Department, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. [elenazhernova@sibmail.com](mailto:elenazhernova@sibmail.com). ResearcherID J-3122-2017. Scopus Author 57216672615. ORCID iD 0000-0002-9304-4496.



Boiko Anastasiia S., PhD, researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. ResearcherID A-9465-2016. Scopus Author 55695787000. ORCID iD 0000-0002-2955-9057.

Ivanova Svetlana A., DSc, Deputy Director for Research, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. ivanovaniipz@gmail.com. ResearcherID C-5333-2012. Scopus Author 36113599800. ORCID iD 0000-0001-7078-323X.

✉ Losenkov Innokentiy S., innokenty86@mail.ru