

УДК 577.352.332:612.112.94

## ПОИСК МАРКЕРОВ ТОКСИЧНОСТИ ЛИТИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Г.П. Зубрицкая, Е. И. Слобожанина

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларусь», Минск, [petro371@mail.ru](mailto:petro371@mail.ru)

**Аннотация.** В работе рассмотрены вопросы по поиску маркеров токсичности лития в организме человека. Полученные данные позволяют заключить, что активность GST в лимфоцитах является маркером токсичности ионов лития.

**Ключевые слова:** препараты лития, маркер токсичности, активность GST, лимфоциты, клеточные тест-системы, оценка токсичности.

**Введение.** Препараты лития в разных формах применяют в психиатрии, неврологии, трансплантологии и онкологии. Используются соли лития и в животноводстве как компонент кормовых добавок. Точные биохимические механизмы терапевтических эффектов лития до сих пор окончательно не установлены. Вероятнее всего, литий оказывает своё терапевтическое действие за счёт конкуренции с другими ионами, прежде всего с ионами натрия и магния (с которыми ионы лития имеют наибольшее химическое сходство), и в гораздо меньшей мере – с ионами калия и кальция (с которыми сходство ионов лития значительно меньше), за их специфические ионные каналы, транспортные механизмы и места связывания с белками клеток [1]. Li<sup>+</sup> поступает в клетки через Na<sup>+</sup>-каналы и Na<sup>+</sup>/Li<sup>+</sup> обменники, а удаляется Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> АТФазой, однако низкая скорость данного процесса способствует накоплению Li<sup>+</sup> в клетках, которое, в свою очередь, может стать причиной его токсичного воздействия на клетки крови. Воздействие лития на клетки крови — это двунаправленный эффект. Терапевтические дозы преимущественно стимулируют лейкопоэз, тогда как острыя передозировки могут вызвать тяжелую миелосупрессию и панцитопению вследствие общей цитотоксичности и нарушения клеточного метаболизма [2]. В некоторых исследованиях показано, что воздействие лития на эритроциты может снижать уровень глутатиона и стимулировать перекисное окисление липидов, что указывает на оксидативный стресс и потенциальное повреждение клеток [3]. В последние годы накапливаются данные о влиянии Li на иммунные клетки. Известно, что литий может воздействовать на пролиферацию, жизнеспособность и функциональную активность лимфоцитов, которые играют ключевую роль в иммунном ответе и патогенезе многих заболеваний, включая аутоиммунные и нейровоспалительные процессы.

**Материалы и методы.** В работе была использована кровь доноров в консерванте «глюгицир», полученная из РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий МЗ РБ. Эритроциты выделяли путем центрифugирования крови при 1500 g, 5 мин и трижды отмывали в изотоническом растворе NaCl. Лимфоциты (мононуклеарные клетки) периферической крови человека изолировали в градиенте плотности гистопака-1077 путем центрифугирования крови (300 g, 30 мин) и последовательных отмывок в PBS-буфере. Далее клетки крови подвергались воздействию сульфата или хлорида лития в фармакологических (0,5 mM - 3 mM) и токсичных (6 mM и 10 mM) концентрациях в течение 3-15 ч при 37 °C при постоянном перемешивании. О состоянии глутатионового звена в клетках крови судили по активности фермента глутатион-S-трансферазы (GST) и концентрации восстановленного глутатиона (GSH). Оценку уровня активных форм кислорода (АФК) в лимфоци-

так проводили с использованием флуоресцентного зонда 5-хлорметил-2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (CM-H<sub>2</sub>DCFDA). Методом проточной цитометрии оценку жизнеспособности лимфоцитов проводили с использованием флуоресцентного красителя кальцеина - АМ.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Важная роль в редокс-зависимых клеточных взаимодействиях принадлежит GST, которая вносит большой вклад в защиту клетки от токсического воздействия веществ [4]. Также известно, что GST кроме детоксикации ксенобиотиков участвует в работе антиоксидантной системы. Это происходит в результате восстановления органических гидроперекисей до спиртов. При этом GSH используется в качестве коубстрата. Нами установлено, что активность GST в эритроцитах повышается при воздействии на клетки только 3 мМ сульфата лития (рисунок 1 А). При воздействии фармакологических концентраций активность фермента имела тенденцию к снижению, а при более высоких концентрациях – тенденцию к увеличению активности данного фермента. Что касается лимфоцитов периферической крови, то как видно из рисунка 1 Б, сульфат лития в фармакологических концентрациях достоверно снижает активность GST, а при токсических полностью ее ингибирует.

Таким образом, установлено, что GST после воздействия на эритроциты сульфата лития в фармакологических и токсических концентрациях не испытывает значимых изменений активности, в то время как токсические концентрации ионов лития ингибируют активность глутатионтрансферазы в лимфоцитах периферической крови.

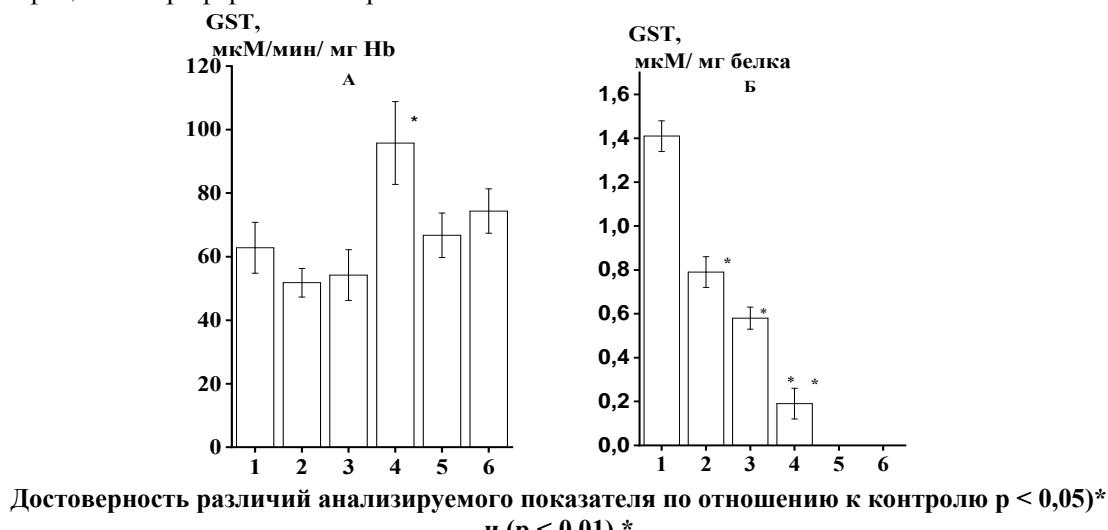
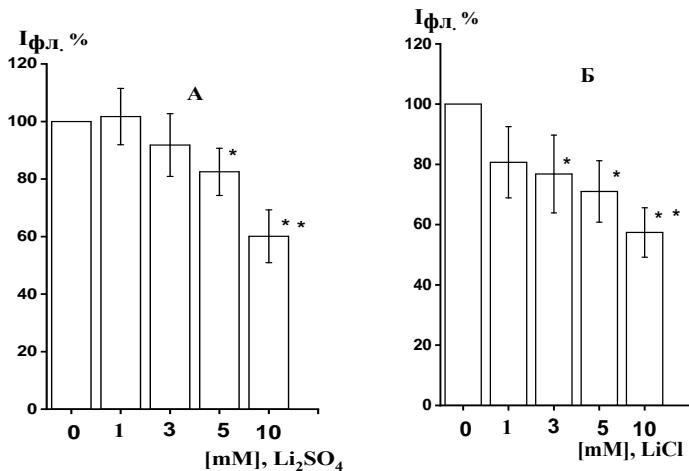


Рисунок 1. – Активность цитоплазматической глутатион-S-трансферазы в эритроцитах (А) и лимфоцитах (Б), подвергшихся воздействию сульфата лития *in vitro*: 1 – контроль-клетки до инкубации с Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 2 – 0,5 мМ Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 3 – 1 мМ Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 4 – 3 мМ Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 5 – 6 мМ Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 6 – 10 мМ Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

В наших экспериментах не обнаружено достоверных изменений уровня восстановленного глутатиона при воздействии на эритроциты изучаемого диапазона концентраций Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Показано, что при воздействии фармакологических концентраций сульфата лития на лимфоциты наблюдалась тенденция к снижению GSH, а при обработке данных клеток токсическими концентрациями обнаружено достоверное снижение среднего значения концентрации GSH примерно на 20 и 50 % соответственно. Полученные результаты показали отличия ответов эритроцитов и лимфоцитов на воздействие сульфата лития. В эритроцитах под воздействием сульфата лития не наблюдается изменения активности GST и уровня GSH, в то время как после воздействия данной соли на лимфоциты в концентрациях 6 мМ и выше происходит полное ингибирование активности этого фермента и достоверное снижение концентрации GSH, что говорит об индуцированном ионами лития изменении редокс-статуса лимфоцитов, но не эритроцитов. Действительно, как показано нами с помощью проточной цитометрии с использованием 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата, уровень АФК в лимфоцитах при токсической концентрации 6 мМ хлорида лития увеличивался примерно в 2 раза по сравнению с контролем, а при максимальной токсической концентрации 10 мМ сульфата лития увеличение уровня АФК составляло примерно 20 % по отношению к контролю [5]. Обнаружено статистически значимое снижение жизнеспособности эритроцитов на 20-25% по сравнению с контрольными клетками при воздействии на них LiCl в концентрациях 0,3–10 мМ в течение 3 ч при 37°C. При инкубации же лимфоцитов с Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и LiCl в фармакологической кон-

центрации 3 мМ и токсической концентрации 6 мМ снижение эстеразной активности кальцеина-АМ было больше при хлориде лития, а при токсической концентрации 10 мМ для  $\text{Li}_2\text{SO}_4$  и для  $\text{LiCl}$  была примерна одинаковой (>50%) (рисунок 2). Таким образом, в лимфоцитах, подвергшихся воздействию солей лития в диапазоне концентраций от 3 до 10 мМ происходит ингибирирование цитозольной эстеразной активности в отличие от эритроцитов, где снижение жизнеспособности наблюдалась уже при 0, 3 мМ, что говорит о снижении жизнеспособности клеток, которая зависит прежде всего от концентрации солей лития.



За 100% принято среднее значение интенсивности флуоресценции кальцеина – АМ, вышедшего из суммарной популяции лимфоцитов доноров в отсутствии сульфата лития в инкубационной среде (контроль);

\* – различия по сравнению с контролем достоверны ( $p < 0,05$ ), \*\* – различия по сравнению с контролем достоверны ( $p < 0,01$ )

**Рисунок 2. – Остаточное удержание кальцеина в суммарной популяции лимфоцитов доноров после воздействия сульфата лития (А) и хлорида лития (Б) *in vitro***

**Заключение.** Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что активность GST в лимфоцитах является маркером токсичности ионов лития. Планируется использовать это как методологическую основу для разработки клеточной тест-системы оценки токсичности соединений лития в крови человека.

*Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (договор № Б24КИ-077).*

#### *Список использованных источников*

- Chang C.M. Utilization of psychopharmacological Treatment Among Patients With Newly Diagnosed Bipolar Disorder From 2001 to 2010/ C.M. Chang, C.S.Wu, Y.W. Huang [et.al.] // J. Clin Psychopharmacol. – 2016. –Vol.36, – N 1. –P. 32–44.
- Joshi R. Lithium Toxicity Associated with Pancytopenia And Megaloblastic Anaemia/ R Joshi, M. Meena // Indian Journal of Mental Health –2021. –Vol.8, –N3. – P.339–441.
- Bhardwaj P. Lithium Treatment Aggregates the Adverse Effects on Erythrocytes Subjected to Arsenic Exposure/ P. Bhardwaj, J. Kinnri, D. K. Dhawan//Biol. Trace Elem Res. –2018. –Vol184, –N. 1. – P.206-213.
- Holley S.I. Differential effects of glutathione-S-transfierase pi (GSTP1) haplotypes on cell proliferation and apoptosis / S.I. Holley., A.A.Fryer, J. W. Haycock [et al.] // Carcinogenesis. – 2017. –Vol. 28, –N. 11. –P. 1130 – 1161.
- Зубрицкая Г.П. Влияние солей лития на протекание окислительных процессов в лимфоцитах человека *in vitro*/ Г.П Зубрицкая, О.В. Климович, О. Ю. Махина [и др.] // Новости медико-биологических наук. – 2024. – Т. 24, –N.3. – С. 195–200.