

УДК 577.112:591.51:591.144.4:591.481

ЭФФЕКТЫ НЕПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛИТИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ АНТИАПОПТОЗНОГО БЕЛКА Bcl-xL В КОРЕ И ГИППОКАМПЕ КРЫС В ОТВЕТ НА ОСТРЫЙ СТРЕСС

© 2017 Н.Н. Дыгало^{1,2*}, А.В. Баннова¹, Е.В. Сухарева^{1,2}, Г.Т. Шишкина¹, К.А. Айриянц^{1,2}, Т.С. Калинина^{1,2}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090 Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 630090 Новосибирск, Россия; электронная почта: dygalo@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 19.10.16

Антиапоптотный белок Bcl-xL вовлечен в процессы, сопряженные с нейробиологической устойчивостью к стрессу, что обуславливает интерес к возможному повышению его экспрессии в мозге в ответ на стресс, путем введения психотропных препаратов. С этой целью в работе исследовали эффекты широко используемого в психиатрической практике лития (LiCl), введенного взрослым самцам крыс в течение 2 или 7 дней на синтез мРНК и белка Bcl-xL в коре и гиппокампе в условиях стрессорного воздействия, провоцирующего у животных депрессивно-подобное поведение. В отличие от мозгового нейротрофического фактора (BDNF), экспрессия гена которого классически снижалась в гиппокампе в ответ на острый стресс, уровень мРНК Bcl-xL был повышен после стресса в гиппокампе, но снижен во фронтальной коре. Введение лития в течение 2 или 7 дней увеличивало в 1,5 раза содержание белка Bcl-xL в гиппокампе стрессированных животных, но снижало его в коре. В целом обнаружено, что экспрессия Bcl-xL в мозге чувствительна не только к стрессорным воздействиям, но и к психотропным препаратам. Характер изменения экспрессии антиапоптотного белка оказался зависимым от отдела мозга с преимущественным повышением в гиппокампе и, напротив, снижением во фронтальной коре. Впервые выявленное в работе повышение экспрессии Bcl-xL в гиппокампе под влиянием лития позволяет предполагать вовлечение этого белка в терапевтические эффекты LiCl при индуцируемых стрессом психоэмоциональных расстройствах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Bcl-xL, мозговой нейротрофический фактор, хлорид лития, стресс, фронтальная кора, гиппокамп, экспрессия гена.

Нарушение нейропластических процессов в мозге, например, в результате перенесенного стресса, связывают с развитием симптомов депрессии [1]. Нейротрофический фактор BDNF (brain-derived neurotrophic factor), регулирующий нейрогенез и жизнеспособность клеток, играет важную роль в структурных эффектах стресса на мозг. На внутриклеточном уровне некоторые нейропротективные функции BDNF осуществляются с участием антиапоптотных белков, таких как Bcl-xL [2]. Помимо своей основной функции — защиты клеток всех типов от программируемой гибели, антиапоптотный белок Bcl-xL способен также влиять на количество, размер и активность синапсов, высвобождение нейротрансмиттеров и рециклирование синаптических везикул, спонтанные и вызванные си-

наптические ответы [3–6]. Экспрессия этого белка может быстро меняться в ответ на повышение активности нейронов [7], что характерно для белков нейропластичности, изменяющих структуру и свойства нейронов при их активации. Перечисленные характеристики Bcl-xL могут лежать в основе обнаруженной ассоциации его повышенной экспрессии с психоэмоциональной и нейрохимической устойчивостью в условиях кратковременного стресса, а также при действии антидепрессантов [8–11]. Возникает вопрос о возможности повышения экспрессии этого антиапоптотного белка в мозге в условиях стресса с помощью психотропных препаратов. В связи с нейропротективными эффектами значительный интерес вызывают в последнее время соли лития, широко используемые в качестве стабилизаторов настроения при терапии биполярных расстройств [12, 13]. Обнаружено, что

* Адресат для корреспонденции.

литий может влиять на экспрессию BDNF, а также белка Vcl-2 в мозге [14, 15], являющегося наиболее изученным из антиапоптозных белков. По способности защищать клетки от гибели этот белок сходен с Vcl-xL, однако, в отличие от последнего, такие свойства Vcl-2, как влияние на стабилизацию синаптических связей, выделение нейротрансмиттеров или ответ на разрядную активность нейрона остаются неизученными. Учитывая присущие Vcl-xL нейропластические функции [3–7], представляется необходимым восполнить отсутствие данных о влиянии лития на экспрессию этого белка в мозге. Такие сведения могут оказаться полезными, например, для уточнения механизма действия препаратов этого класса и выявления их новых терапевтических мишеней. Поэтому основной задачей данной работы явилось исследование влияния двух относительно непродолжительных режимов введения LiCl (двух- или семидневного) на экспрессию мРНК и белка Vcl-xL в коре и гиппокампе взрослых крыс после стресса, провоцирующего депрессивно-подобное поведение. Для сравнения после стресса и введения лития была также оценена экспрессия гена классического нейропротекторного фактора – BDNF.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работу проводили на взрослых самцах крыс линии Вистар, разделенных на 4 группы (по 10 животных в каждой группе). Животные первой группы не получали каких-либо инъекций. Животные второй группы получали в течение семи дней ежедневные инъекции физиологического раствора, крысам третьей группы в течение первых пяти дней вводили физиологический раствор, а затем в течение двух дней – LiCl (84 мг/кг, внутривенно). Животные четвертой группы в течение всего семидневного эксперимента получали инъекции LiCl в указанной выше дозе, которая обеспечивает терапевтические уровни лития в мозге людей и вызывает поведенческие эффекты у животных. На шестой и седьмой дни эксперимента через 2 ч после введения препаратов с промежутком в 24 ч были проведены стрессорные воздействия принудительным плаванием: претестовая сессия в течение 15 мин и тестовая сессия в течение 5 мин, соответственно. Через 2 ч после повторного плавания, в течение которого у грызунов развивается характерное «депрессивно-подобное» поведение, животных забивали, на льду быстро выделяли структуры мозга, которые хранили в жидком азоте до определения в них мРНК или белковых продуктов.

Суммарную РНК из полученных образцов ткани мозга животных выделяли одностадийным гуанидин-изотиоцианатным методом. Количественный анализ содержания мРНК генов *BDNF* и *Vcl-xL* относительно мРНК *ACTB* проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов TaqMan® Gene Expression Assays (Rn02531967_s1 для *BDNF*, Rn00437783_m1 для *Vcl-xL*, Rn00667869_m1 для *ACTB*, «Applied Biosystems» США) на амплификаторе ABI VIIA™ 7 («Applied Biosystems», США), и рассчитывали по методу $\Delta\Delta Ct$.

Для определения уровня белка Vcl-xL методом вестерн-блоттинга, образцы гиппокампа и коры гомогенизировали в лизирующем буфере, содержащем 150 mM NaCl, 50 mM Tris, 1% Трипон X-100 и ингибиторы протеаз: 2 mM PMSF (фенилметилсульфонилфторид, phenylmethyl sulphonyl fluoride) и по 2 мкг/мл леупептина, пепстатина и апротинина. 50 мкг выделенного общего белка разделяли методом электрофореза в 12%-ном ПААГ с Ds-Na (система Mini-Protean 3 Dodeca Cell, «Bio-Rad Laboratories», США) и переносили на нитроцеллюлозную мембрану 0,45 мкм (система Trans-Blot, «Bio-Rad Laboratories», США). Выявление исследуемых белков на мембране проводили с помощью антител: первичных (Vcl-xL – #2764, rabbit monoclonal, разведение 1 : 500, «Cell Signaling», США; β -актина – sc-1616, rabbit polyclonal, разведение 1 : 20 000, «Santa Cruz Biotechnology», США) и вторичных (goat anti-rabbit IgG antibody; разведение 1 : 1000 для Vcl-xL и 1 : 10 000 для β -актина, «Bio-Rad Laboratories», США). Затем усиливали хемилюминисцентный сигнал с помощью специального набора (Chemiluminescence kit SuperSignal™ West Femto Maximum Sensitivity Substrate, «Life Technologies», США). Интенсивность окрашивания полос, соответствующих анализируемым белкам, определяли путем сканирования мембран (Chemidoc™ Touch Imaging System, «Bio-Rad Laboratories», США) и компьютерной денситометрии (программа Scion Image 4.0.3.2, «Scion Corporation», США). Количество белка Vcl-xL выражали в относительных единицах к β -актину того же образца.

Результаты определения уровней мРНК и белков представлены в виде $M \pm S.E.M.$ Различия между группами оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующим сравнением по критерию LSD Фишера и считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование влияния двукратного стресса принудительного плавания на мРНК BDNF обнаружилось, по сравнению с нестрессированными

животными, существенное (почти на 40%) снижение уровня транскрипта нейротрофина в гиппокампе (рис. 1, *a*) и отсутствие достоверных изменений уровня мРНК BDNF во фронтальной коре (рис. 1, *б*) у контрольных самцов крыс, получавших инъекции физиологического раствора. Введение лития в течение 2 дней не повлияло на стрессорный уровень мРНК BDNF ни в гиппокампе (рис. 1, *a*), ни во фронтальной коре (рис. 1, *б*) относительно стрессированных животных контрольной группы, однако во фронтальной коре (рис. 1, *б*), введение препарата усилило вызванную стрессом тенденцию к снижению

экспрессии нейротрофина до достоверного уровня по сравнению с нестрессированными животными. В отличие от двукратного введения, литий, применяемый в течение 7 последовательных дней, достоверно снизил в гиппокампе стрессорный уровень мРНК BDNF по сравнению с соответствующим контролем. Таким образом, как стресс, так и инъекции лития оказывали, судя по экспрессии BDNF, существенный эффект на нейропластические процессы в головном мозге.

Оба эти воздействия значительно изменяли и экспрессию гена антиапоптозного белка Bcl-xL в исследованных отделах мозга (рис. 2, *a* и *б*).

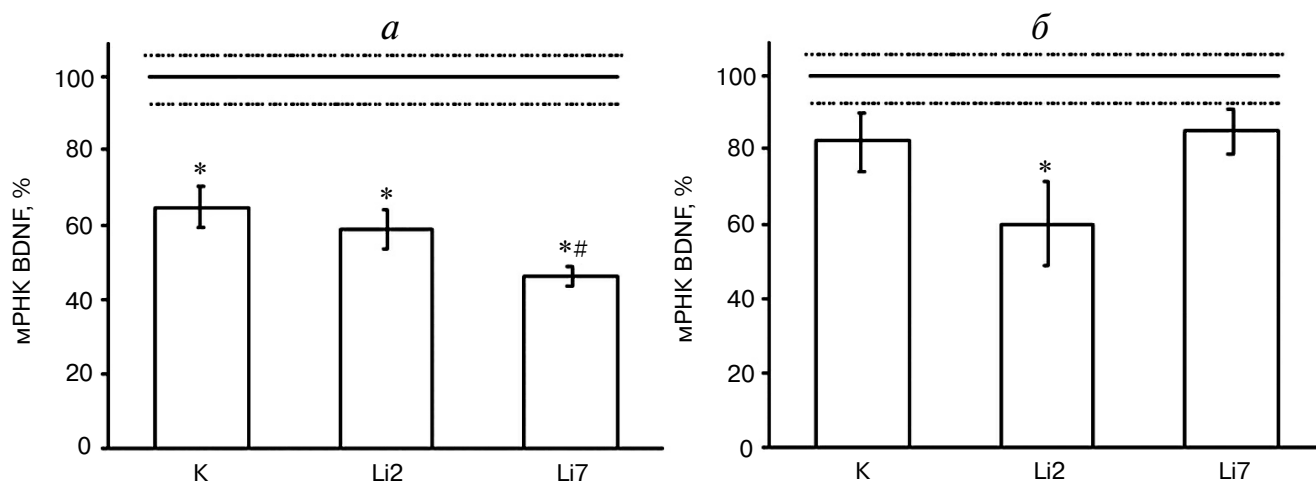


Рис. 1. Уровни мРНК BDNF в гиппокампе (*a*) и фронтальной коре (*б*) взрослых самцов после стресса принудительного плавания, выраженные в процентах относительно уровня нестрессированного контроля, принятого за 100% и показанного сплошной линией (\pm SEM – пунктирными линиями). К – введение физиологического раствора; Li2 и Li7 – введение LiCl в течение 2 или 7 дней, соответственно. * $p < 0,05$ по сравнению с нестрессированными животными; # $p < 0,05$ по сравнению с К

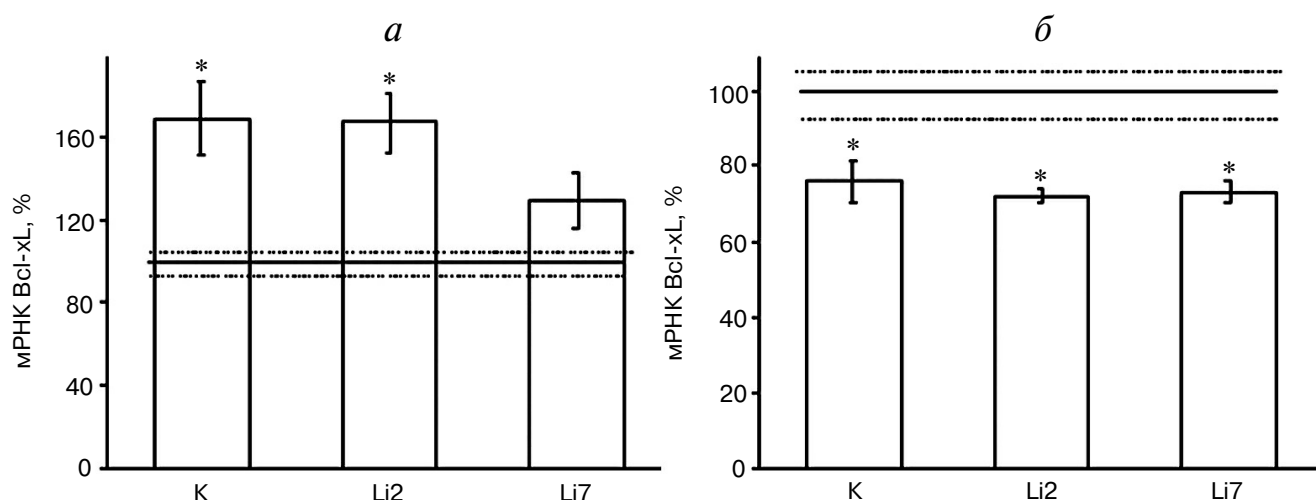


Рис. 2. Уровни мРНК Bcl-xL в гиппокампе (*a*) и фронтальной коре (*б*) взрослых самцов после стресса принудительного плавания, выраженные в процентах относительно уровня нестрессированного контроля, принятого за 100% и показанного сплошной линией (\pm SEM – пунктирными линиями). К – введение физиологического раствора; Li2 и Li7 – введение LiCl в течение 2 или 7 дней, соответственно. * $p < 0,05$ по сравнению с нестрессированными животными

Наиболее очевидным в отношении уровня мРНК было, однако, влияние стресса, который более чем в полтора раза повышал уровень транскрипта *Bcl-xL* в гиппокампе (рис. 2, *а*) и на треть снижал его во фронтальной коре (рис. 2, *б*). Воздействие лития на уровень мРНК *Bcl-xL* не проявлялось в коре ни при двух-, ни при семидневном введении. Двухдневные инъекции нейролептика не повлияли и на стрессорное повышение уровня мРНК *Bcl-xL* в гиппокампе, в то время как при более продолжительном, семидневном введении, *LiCl* снижал стрессорный уровень транскрипта антиапоптозного белка до значений нестрессированных животных.

Более отчетливыми оказались эффекты лития на уровне белкового продукта *Bcl-xL*, причем они зависели от отдела мозга и в каждом конкретном отделе были сходными по направлению, как после двух-, так и семикратного введения (рис. 3, *а* и *б*). Так, в гиппокампе стрессированных животных, после введения лития в течение и двух, и семи дней обнаружено почти полуторакратное увеличение количества белка *Bcl-xL* по сравнению с получавшими физиологический раствор контрольными особями (рис. 3, *а*). Напротив, в коре мозга стрессированных крыс, содержание белка *Bcl-xL* после инъекций лития было более чем на треть ниже по сравнению с соответствующим контролем (рис. 3, *б*). Таким образом, эффекты *LiCl*, практически незаметные на фоне стресса при анализе уровней мРНК *Bcl-xL*, оказались более ясными при исследовании белкового продукта. Обращает на себя внимание совпадение направлений изменения уровней синтеза как транскрипта в результате стресса, так и продукции белка

под влиянием нейролептика: повышение в гиппокампе и снижение во фронтальной коре.

В целом результаты свидетельствуют о том, что, экспрессия антиапоптозного белка *Bcl-xL* в головном мозге, как и многих других факторов нейропластичности, изменяется под воздействием стресса и применения нейролептиков. Особенностью этих изменений является их зависимость от отдела мозга: преимущественное повышение содержания этих факторов в гиппокампе и, напротив, снижение – во фронтальной коре.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе впервые наблюдали существенное влияние психотропного препарата *LiCl* на экспрессию антиапоптозного белка *Bcl-xL*, обладающего рядом свойств, характерных для участников нейропластических процессов, в коре и гиппокампе стрессированных крыс. Важной особенностью этого влияния оказалась зависимость направления эффекта от структуры мозга. Если в гиппокампе зафиксировано преимущественно повышающее действие стресса и лития, то в коре на фоне этих воздействий снижались уровни как мРНК, так и белка. Также обращает на себя внимание отсутствие ясного параллелизма между изменениями уровней транскрипта и собственно белка *Bcl-xL*.

Перечисленные особенности эффектов лития на экспрессию *Bcl-xL* *in vivo* наблюдались впервые, поэтому естественно, что какие-либо сведения, необходимые для обсуждения возможных механизмов воздействия нейролептика

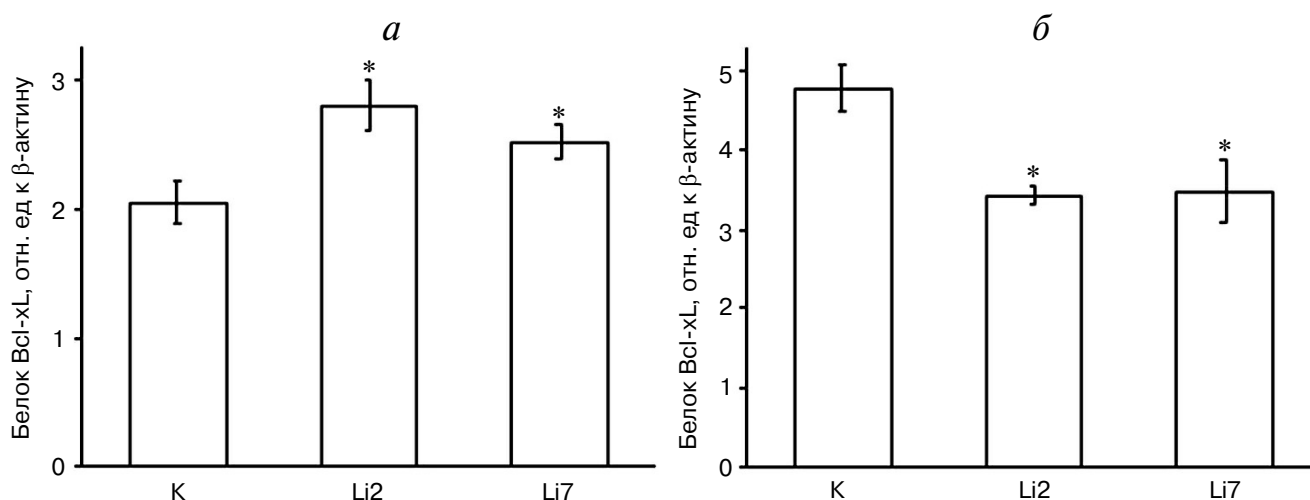


Рис. 3. Уровни белка *Bcl-xL* (относительно β -актину) в гиппокампе (*а*) и фронтальной коре (*б*) взрослых самцов после стресса принудительного плавания. К – введение физиологического раствора; Li2 и Li7 – введение *LiCl* в течение 2 или 7 дней, соответственно. * $p < 0,05$ по сравнению с К

на экспрессию именно этого гена, в настоящее время пока отсутствуют. Вместе с тем описаны подобные особенности влияния лития на экспрессию более изученного участника нейропластических процессов в мозге – BDNF. Так, было установлено, что LiCl снижает уровень белка BDNF в коре, но не в гиппокампе [16]. Напротив, активация *trkB*-рецепторов BDNF при продолжительном введении лития наблюдалась в коре, но не в гиппокампе [17]. Регион-специфические эффекты лития обнаружены и в отношении других сигнальных систем, например, субъединиц гуанин-связывающих белков, экспрессия которых под влиянием LiCl существенно изменялась в гиппокампе и оставалась неизменной в коре [18].

Отмеченные в работе изменения уровней мРНК BDNF под влиянием стресса и лития свидетельствуют об эффективности примененных нами воздействий в отношении нейропластических процессов в мозге и находятся в рамках достаточно широкого спектра эффектов нейрорепарации на экспрессию этого гена [14, 15]. В дополнение к сведениям о повышении уровня BDNF в культуре клеток [19], а также в гиппокампе и коре в результате 2–4-недельного, но не однонедельного, воздействия литием [20], в литературе присутствуют данные об отсутствии изменений продукции белка [21] и мРНК BDNF [22] и даже о снижении уровня этого транскрипта [23, 24] под влиянием нейрорепарации. Наблюдавшееся в работе рассогласование воздействия лития на уровни мРНК и белка не является уникальным свойством Bcl-xL. Подобная несогласованность отмечена в ряде исследований изменения уровней белка и транскрипта BDNF в нервной ткани под влиянием нейрорепарации [21, 23].

Наряду с данными о BDNF, в литературе имеются некоторые сведения и о воздействии лития на экспрессию антиапоптозного белка Bcl-2 [14, 15]. Например, было обнаружено, что семидневная инкубация культуры гранулярных клеток мозжечка в присутствии LiCl приводила к повышению уровня синтеза мРНК и белка Bcl-2 в этих клетках [25]. Вскоре была установлена и повышающая регуляция нейрорепарацией экспрессии Bcl-2 *in vivo* [26]. Недавно повыше-

ние уровня мРНК антиапоптозных белков Bcl-2 и Bcl-xL под влиянием лития наблюдали в культуре нейронов гиппокампа [19]. Полученные в нашей работе результаты *in vivo* хорошо согласуются с этими данными *in vitro* и свидетельствуют о возможном осуществлении нейропротекторных эффектов лития, по крайней мере, в гиппокампе, с участием белка Bcl-xL. Сведения о том, что из 62 генов, дифференцированно изменявших экспрессию под влиянием лития у отвечающих и не отвечающих на лечение пациентов с биполярной депрессией, наибольшие отличия наблюдались по экспрессии Bcl-xL (BCL2L1) [27], наводят на мысль о возможном значении воздействия LiCl на экспрессию этого гена для клиники. Наличие повышенной продукции Bcl-xL в клетках крови лишь пациентов, отвечавших на терапию литием, но не у устойчивых к его действию или остававшихся без его воздействия, по мнению авторов, свидетельствует о специфической роли этого гена в терапевтическом ответе на нейрорепарацию. Результаты нашей работы впервые продемонстрировали, что литий повышает экспрессию Bcl-xL не только в клетках крови [27] или культуре клеток *in vitro* [19], но и в такой важной для регуляции психоэмоциональных состояний структуре организма структуре мозга как гиппокамп.

В целом, установлено, что экспрессия Bcl-xL в мозге чувствительна к воздействиям стресса и нейрорепарации, и характер изменения его ответа зависит от отдела мозга: преимущественное повышение продукции в гиппокампе и, напротив, понижение во фронтальной коре. Впервые выявленное в работе повышающее влияние лития на экспрессию Bcl-xL в гиппокампе позволяет предполагать вовлечение этого антиапоптозного белка в терапевтические эффекты нейрорепарации при психоэмоциональных расстройствах.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-00132) и гос. задания (проект № 0324-2015-0004).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lucassen, P.J., Meerlo, P., Naylor, A.S., Van Dam, A.M., Dayer, A.G., Fuchs, E., Oomen, C.A., and Czeh, B. (2010) Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action, *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **20**, 1–17.
2. Chao, C.C., Ma, Y.L., and Lee, E.H. (2011) Brain-derived neurotrophic factor enhances Bcl-xL expression through protein kinase casein kinase 2-activated and nuclear factor kappa B-mediated pathway in rat hippocampus, *Brain Pathol.*, **21**, 150–156.
3. Jonas, E. (2006) Bcl-xL regulates synaptic plasticity, *Mol. Interv.*, **6**, 208–222.

4. Gal, A., Pentelenyi, K., Remenyi, V., Wappler, E.A., Safrany, G., Skopal, J., and Nagy, Z. (2009) Bcl-2 or Bcl-xL gene therapy increases neural plasticity proteins nestin and c-fos expression in PC12 cells, *Neurochem. Int.*, **55**, 349–353.
5. Li, H., Chen, Y., Jones, A.F., Sanger, R.H., Collis, L.P., Flannery, R., McNay, E.C., Yu, T., Schwarzenbacher, R., Bossy, B., Bossy-Wetzell, E., Bennett, M.V., Pypaert, M., Hickman, J.A., Smith, P.J., Hardwick, J.M., and Jonas, E.A. (2008) Bcl-xL induces Drp1-dependent synapse formation in cultured hippocampal neurons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 2169–2174.
6. Li, H., Alavian, K.N., Lazrove, E., Mehta, N., Jones, A., Zhang, P., Licznanski, P., Graham, M., Uo, T., Guo, J., Rahner, C., Duman, R.S., Morrison, R.S., and Jonas, E.A. (2013) A Bcl-xL-Drp1 complex regulates synaptic vesicle membrane dynamics during endocytosis, *Nat. Cell. Biol.*, **15**, 773–785.
7. Ланшаков Д.А., Дрозд У.С., Дыгало Н.Н. (2017) Оптогенетическая активация нейрона повышает в нем уровень антиапоптозного белка Bcl-xL, *Биохимия*, **82**, 481–486.
8. Shishkina, G.T., Kalinina, T.S., Berezova, I.V., Bulygina, V.V., and Dygalo, N.N. (2010) Resistance to the development of stress-induced behavioral despair in the forced swim test associated with elevated hippocampal Bcl-xL expression, *Behav. Brain Res.*, **213**, 218–224.
9. Dygalo, N.N., Kalinina, T.S., Bulygina, V.V., and Shishkina, G.T. (2012) Increased expression of the anti-apoptotic protein Bcl-xL in the brain is associated with resilience to stress-induced depression-like behavior, *Cell. Mol. Neurobiol.*, **32**, 767–776.
10. Shishkina, G.T., Kalinina, T.S., Berezova, I.V., and Dygalo, N.N. (2012) Stress-induced activation of the brainstem Bcl-xL gene expression in rats treated with fluoxetine: correlations with serotonin metabolism and depressive-like behavior, *Neuropharmacology*, **62**, 177–183.
11. Shishkina, G.T., Kalinina, T.S., Bulygina, V.V., Lanshakov, D.A., Babluk, E.V., and Dygalo, N.N. (2015) Anti-apoptotic protein Bcl-xL expression in the midbrain raphe region is sensitive to stress and glucocorticoids, *PLoS One*, **10**, e0143978.
12. Bauer, M.S., and Mitchner, L. (2004) What is a «mood stabilizer»? An evidence-based response, *Am. J. Psychiatry*, **161**, 3–18.
13. Dell'Osso, L., Del Grande, C., Gesi, C., Carmassi, C., and Musetti, L. (2016) A new look at an old drug: neuroprotective effects and therapeutic potentials of lithium salts, *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, **12**, 1687–1703.
14. Hammonds, M.D., and Shim, S.S. (2009) Effects of 4-week treatment with lithium and olanzapine on levels of brain-derived neurotrophic factor, B-cell CLL/lymphoma 2 and phosphorylated cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein in the sub-regions of the hippocampus, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, **105**, 113–119.
15. Quiroz, J.A., Machado-Vieira, R., Zarate, C.A., Jr., and Manji, H.K. (2010) Novel insights into lithium's mechanism of action: neurotrophic and neuroprotective effects, *Neuropsychobiology*, **62**, 50–60.
16. Angelucci, F., Aloe, L., Jimenez-Vasquez, P., and Mathe, A.A. (2003) Lithium treatment alters brain concentrations of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor in a rat model of depression, *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **6**, 225–231.
17. Rantamaki, T., Knuutila, J.E., Hokkanen, M.E., and Castren, E. (2006) The effects of acute and long-term lithium treatments on trkB neurotrophin receptor activation in the mouse hippocampus and anterior cingulate cortex, *Neuropharmacology*, **50**, 421–427.
18. McGowan, S., Eastwood, S.L., Mead, A., Burnet, P.W., Smith, C., Flanigan, T.P., and Harrison, P.J. (1996) Hippocampal and cortical G protein (Gs alpha, G(o) alpha and Gi2 alpha) mRNA expression after electroconvulsive shock or lithium carbonate treatment, *Eur. J. Pharmacol.*, **306**, 249–255.
19. Dwivedi, T., and Zhang, H. (2015) Lithium-induced neuroprotection is associated with epigenetic modification of specific BDNF gene promoter and altered expression of apoptotic-regulatory proteins, *Front. Neurosci.*, **8**, 457.
20. Fukumoto, T., Morinobu, S., Okamoto, Y., Kagaya, A., and Yamawaki, S. (2001) Chronic lithium treatment increases the expression of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain, *Psychopharmacology (Berl.)*, **158**, 100–106.
21. Emamghoreishi, M., Keshavarz, M., and Nekooeian, A.A. (2015) 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.*, **18**, 240–246.
22. Stertz, L., Fries, G.R., Aguiar, B.W., Pfaffenseller, B., Valvassori, S.S., Gubert, C., Ferreira, C.L., Moretti, M., Cereser, K.M., and Kauer-Sant'Anna, M. (2014) Histone deacetylase activity and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in a pharmacological model of mania. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, **36**, 39–46.
23. Jacobsen, J.P., and Mork, A. (2004) The effect of escitalopram, desipramine, electroconvulsive seizures and lithium on brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the rat brain and the correlation to 5-HT and 5-HIAA levels, *Brain Res.*, **1024**, 183–192.
24. Hanson, N.D., Nemeroff, C.B., and Owens, M.J. (2011) Lithium, but not fluoxetine or the corticotropin-releasing factor receptor 1 receptor antagonist R121919, increases cell proliferation in the adult dentate gyrus, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **337**, 180–186.
25. Chen, R.W., and Chuang, D.M. (1999) Long-term lithium treatment suppresses p53 and Bax expression but increases Bcl-2 expression. A prominent role in neuroprotection against excitotoxicity, *J. Biol. Chem.*, **274**, 6039–6042.
26. Manji, H.K., Moore, G.J., and Chen, G. (2000) Clinical and preclinical evidence for the neurotrophic effects of mood stabilizers: implications for the pathophysiology and treatment of manic-depressive illness, *Biol. Psychiatry*, **48**, 740–754.
27. Beech, R.D., Leffert, J.J., Lin, A., Sylvania, L.G., Umlauf, S., Mane, S., Zhao, H., Bowden, C., Calabrese, J.R., Friedman, E.S., Ketter, T.A., Iosifescu, D.V., Reilly-Harrington, N.A., Ostacher, M., Thase, M.E., and Nierenberg, A. (2014) Gene-expression differences in peripheral blood between lithium responders and non-responders in the Lithium Treatment-Moderate dose Use Study (LiTMUS), *Pharmacogenomics J.*, **14**, 182–191.

**EFFECTS OF A SHORT-TERM LITHIUM EXPOSURE
ON ANTIAPOPTOTIC Bcl-xL PROTEIN EXPRESSION
IN CORTEX AND HIPPOCAMPUS OF RATS
AFTER ACUTE STRESS**

**N. N. Dygalo^{1,2*}, A. V. Bannova¹, E. V. Sukhareva^{1,2},
G. T. Shishkina¹, K. A. Ayriyants^{1,2}, and T. S. Kalinina^{1,2}**

¹ *Institute of Cytology and Genetics SB Russian Academy
of Sciences, 630090 Novosibirsk, Russia*

² *Novosibirsk State University, 630090 Novosibirsk,
Russia; E-mail: dygalo@bionet.nsc.ru*

Received October 19, 2016

The antiapoptotic protein Bcl-xL is involved in processes associated with neurobiological resistance to stress, causing attention to a possible increase in its expression by psychotropic drugs in the brain in response to stress. To investigate the issue, adult male rats were treated with lithium (LiCl) (which is widely used in psychiatry) for 2 or 7 days, and expression of Bcl-xL mRNA and protein were determined in the cortex and hippocampus in conditions of stress-provoked depressive-like behavior. In contrast to brain-derived neurotrophic factor (BDNF), whose expression classically decreased in the hippocampus in response to acute stress, the level of Bcl-xL mRNA increased in the hippocampus, but decreased in the frontal cortex after the stress. Treatment with lithium for 2 or 7 days increased the Bcl-xL protein level in the hippocampus, but decreased it in the cortex of stressed animals. In general, the expression of Bcl-xL in the brain is sensitive not only to the stress, but also to psychotropic drugs. The direction of changes in the expression of antiapoptotic protein depended on the brain region, with a predominant increase in the hippocampus, and conversely, a decrease in the frontal cortex. The inducing effect of lithium on the expression of Bcl-xL in the hippocampus, for the first time revealed in this study, suggests an important role of this protein in the therapeutic effects of lithium on psychoemotional stress-induced disorders.

Keywords: Bcl-xL, brain-derived neurotrophic factor, lithium chloride, stress, frontal cortex, hippocampus, gene expression