

**ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДОНЕЦКОЙ
НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ**

На правах рукописи

Сидорова Юлия Владимировна

**ИССЛЕДОВАНИЯ СИНАПТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ НАРУШЕНИЙ
ПОВЕДЕНИЯ ЖИВОТНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПАТОЛОГИИ И
РАЗРАБОТКА ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ
КОРРЕКЦИИ**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Абрамец Игорь Игоревич

Донецк, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Оглавление.....	1
Введение.....	5
Глава 1. Депрессивный синдром при соматических заболеваниях (Обзор литературы).....	13
1.1. Депрессивный синдром и боль.....	16
1.2. Воспаление и депрессивный синдром.....	21
1.3. Депрессивный синдром при эндокринных заболеваниях. Сахарный диабет.....	25
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	30
2.1. Поведенческие исследования.....	30
2.1.1. Исследование уровня депрессивности.....	30
2.1.2. Исследование уровня тревожности.....	31
2.1.3. Исследование когнитивных процессов.....	32
2.2. Электрофизиологические исследования.....	33
2.2.1. Приготовление срезов.....	34
2.2.2. Регистрация электрической активности нейронов.....	35
2.3. Моделирование соматической патологии и побочного действия глюкокортикоидов.....	39
2.3.1. Моделирование сахарного диабета.....	39
2.3.2. Моделирование хронического воспаления.....	39
2.3.3. Моделирование побочного действия глюкокортикостероидов.....	40
2.4. Используемые фармакологические вещества.....	40
2.5. Статистическая обработка.....	41

Глава 3. Нарушения синаптических процессов в коре и гиппокампе и поведения крыс при моделировании сахарного диабета; возможности лекарственной коррекции этих нарушений42

3.1. Нарушение релейных свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов гиппокампа и медиальной префронтальной коры при моделировании сахарного диабета.....43

3.2. Нарушение пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов гиппокампа и медиальной префронтальной коры при моделировании сахарного диабета48

3.3. Нарушение поведенческих реакций крыс при моделировании сахарного диабета.....52

3.4. Оценка степени корреляции связей влияний лекарственных веществ на синаптические процессы и поведенческие реакции животных при моделировании сахарного диабета56

Глава 4. Нарушения синаптических процессов в коре и поведения крыс при моделировании хронического воспаления; возможности лекарственной коррекции этих нарушений.....60

4.1. Нарушение релейных свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов медиальной префронтальной коры при хроническом воспалении и влияние на них исследуемых веществ.....61

4.2. Нарушение пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов медиальной префронтальной коры при хроническом воспалении и влияние на них исследуемых веществ.....67

4.3. Нарушение поведенческих реакций крыс при моделировании хронического воспаления.....69

4.4. Оценка степени корреляции связей влияний лекарственных веществ на синаптические процессы и поведенческие реакции животных при моделировании хронического воспаления.....74

Глава 5. Нарушения синаптических процессов в коре и поведения крыс при моделировании хронического введения глюкокортикостероидов; возможности лекарственной коррекции этих нарушений.....78

5.1. Нарушение релейных свойств синапсов префронтальной коры на фоне хронического введения дексаметазона и влияние на них исследуемых веществ.....	78
5.2 Нарушение пластических свойств синапсов префронтальной коры на фоне хронического введения дексаметазона; влияние на них исследуемых веществ.....	81
5.3. Нарушение поведенческих реакций крыс в условиях хронического введения дексаметазона; влияние на них исследуемых веществ	83
5.4. Оценка корреляционных связей влияний лекарственных веществ на синаптические процессы и поведенческие реакции животных в условиях хронического введения дексаметазона.....	88
Глава 6. Анализ и обсуждение результатов.....	92
Заключение.....	92
Выводы.....	119
Научно-практические рекомендации.....	120
Список сокращений и условных обозначений.....	121
Список литературы.....	123

ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Буквально до середины 90-х годов прошедшего столетия считали, что только некоторые болезни (гипертоническая болезнь, язвенная болезнь, бронхиальная астма и некоторые другие) сопровождаются психо-эмоциональными расстройствами. В настоящее время весь спектр заболеваний, от респираторных до онкологических, считают «психосоматическими» [23,38,73,126,136,149]. У 30% больных пациентов, обращающихся к врачу общей практики, отмечаются симптомы депрессии; примерно 20% госпитализированных больных можно поставить диагноз ипохондрического невроза [13,47,135].

Природа психо-эмоциональных нарушений при соматических заболеваниях неоднородна. В первом приближении можно выделить, по крайней мере, две их причины. Во-первых, это нарушения, связанные с патогенетическими механизмами заболевания. При сахарном диабете и гиперкортизолемии выявлены дефекты возбуждающей глутаматергической синаптической передачи в мозге [9,41,67,118,134]. При воспалительных заболеваниях нарушается обмен моноаминов в мозге [35,128,149]. Нарушение баланса овариальных гормонов вызывает повреждение основного тормозного механизма головного мозга – ГАМК-ергического торможения [14,88,148]. Во-вторых, любое заболевание является стрессогенным фактором. Вызываемое стрессом возмущение в системе гомеостаза организма запускает механизмы активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), являющейся одним из важнейших звеньев стабилизации последнего [1,44,129]. Происходящее при этом усиление секреции и рост уровней глюкокортикоидов в крови и мозге способствует активации глюкокортикоидных рецепторов [44,47,131]. Последние наиболее плотно локализованы в нейронах лимбических структур мозга-префронтальной коре, миндалевидном комплексе, стриатуме, гипокампе и гипоталамусе. Воздействие гормонов стресса на лимбические структуры кардинальным образом меняет их

функциональную активность и это обуславливает нарушения эмоциональных и когнитивных процессов [48,74,131] .

То обстоятельство, что нарушения когнитивных и эмоциональных процессов при соматических заболеваниях имеет двойственную природу, специфическую и стрессогенную, затрудняет их лечение. Основная группа лекарств, используемых для лечения соматических заболеваний, средства патогенетической терапии. Если их использовать в самом начале заболевания, они могут предотвратить развитие эмоциональных и когнитивных расстройств. Если же заболевание длится порядка 2-4 недель, то в мозге возникают морфо-функциональные изменения, своеобразная «память болезни», которая слабо подвергается затуханию и на которую средства патогенетической терапии не оказывают существенного влияния [3]. Эти факты и определяют цель исследования: изучить изменения релейных и пластических свойств синапсов проекционных нейронов медиальной префронтальной коры при моделировании патологии, исследовать влияния на эти изменения и нарушения поведения лекарственных веществ, воздействующих на патогенез, и психофармакологических средств.

СТЕПЕНЬ РАЗРАБОТАННОСТИ ПРОБЛЕМЫ

Нейрохимические и нейрофизиологические особенности формирования когнитивных, эмоциональных и мотивационных нарушений при различных соматических заболеваниях интенсивно начали разрабатываться в конце 90-х – первом пятилетии 2000-х годов. Наиболее полно эта проблема разработана для хронической, в первую очередь, нейропатической боли [89,135,152]. Это позволило разработать относительно эффективные способы предупреждения и лечения хронической боли. Другие соматические заболевания – сахарный диабет, хроническое асептическое воспаление характеризуются многофакторным

влиянием на лимбические структуры головного мозга. Отдельные аспекты этих воздействий изучены достаточно полно, другие аспекты исследованы недостаточно. При моделировании указанных видов патологии на животных доминируют исследования на уровне поведения и лишь в отдельных работах исследовали изменения на нейрональном или синаптическом уровнях [8,28,70]. Практически отсутствуют экспериментальные исследования, в которых на одних и тех же животных сопоставлялись вызываемые патологией изменения, как на уровне поведения, так и на нейрональном и синаптическом уровнях. Дефицит этих данных затрудняет понимание патогенеза нарушений психических функций при моделировании патологии. Отсутствие полноценной картины патогенеза когнитивных, эмоциональных и мотивационных нарушений в этих условиях затрудняет разработку их медикаментозной коррекции.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние психотропных лекарственных средств на процессы синаптической передачи в коре при экспериментальных патологиях.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Исследовать влияние используемых психотропных средств на изменения фоновой межнейронной синаптической передачи в префронтальной коре при моделировании соматической патологии.
2. Изучить влияния применяемых лекарственных средств на нарушения развития длительных потенциации и депрессии синаптической передачи в префронтальной коре на фоне исследуемой патологии.
3. Выяснить влияние используемых лекарственных веществ на нарушения поведения – рост депрессивности и тревоги, замедление воспроизведения навыка обучения – при моделируемой патологии.

4. С помощью корреляционного анализа влияний исследуемых лекарственных веществ на синаптические процессы в коре и поведенческие реакции оценить роль синаптических процессов в нарушениях поведенческих реакций при моделировании патологии.

5. Проанализировать способность выбранных лекарственных средств ослаблять нарушения синаптических процессов и поведенческих реакций при моделировании патологии, как потенциальную возможность их клинического использования.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА ИССЛЕДОВАНИЯ

Впервые показано, что возрастание уровня депрессивности, наблюдаемое при моделировании на крысах сахарного диабета, хронического воспаления и длительном воздействии дексаметазона обусловлено нарушениями пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов медиальной префронтальной коры. Эти синаптические механизмы не играют существенной роли при повышении уровня тревожности при моделировании хронического воспаления, хотя при моделировании сахарного диабета и хроническом воздействии дексаметазона рассматриваемые синаптические процессы участвуют в формировании данной поведенческой реакции. Установлено также, что нарушения синаптической пластичности определяют ухудшение воспроизведения навыков обучения.

Показано, что в условиях моделирования сахарного диабета, хронического воспаления и воздействия дексаметазона нарушения поведения качественно одинаковы и различаются лишь количественно. Однако, нейронные механизмы, приводящие к их развитию, не тождественны. Это затрудняет фармакологическую коррекцию нарушений поведения.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

Результаты проведенных исследований позволят оценить нейрохимические и нейрофизиологические механизмы центральных структур лимбической системы, медиальной префронтальной коры и гиппокампа, участвующих в формировании когнитивных и эмоциональных процессов и их нарушения, приводящие к психическим расстройствам при моделировании соматических заболеваний. С другой стороны, в исследованиях будут выяснены сильные и слабые стороны традиционных психофармакологических средств, используемых для медикаментозной коррекции экспериментальной патологии как на уровне поведенческих реакций, так и на уровне нейрофизиологических и нейрохимических процессов в ключевых структурах лимбической системы, для подбора оптимальных направлений психофармакологической коррекции.

Результаты проведенного исследования включены в материалы лекций и практических занятий для студентов на кафедрах фармакологии и клинической фармакологии, патологической физиологии, семейной медицины Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького. Методические подходы к коррекции когнитивных и эмоциональных нарушений при соматических заболеваниях и побочном действии лекарственных веществ используются в научно-исследовательской работе кафедр фармакологии и клинической фармакологии, семейной медицины Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького.

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В проведенном исследовании использовался комплексный подход по изучению патогенеза эмоциональных и мнестических нарушений при моделировании сахарного диабета, асептического воспаления, побочного

действия при хроническом введении дексаметазона как на уровне поведенческих реакций, так и на уровне клеточных и синаптических процессов. Сопоставления влияния лекарственных веществ на разных уровнях позволило получить более объективную информацию об оптимальных направлениях медикаментозной коррекции этих нарушений.

В работе использованы поведенческие методы, электрофизиологические методы, метод переживающих срезов мозга крыс, фармакологические методы, статистические методы с использованием пакета прикладных программ «Medstat» [5,21,32].

Дизайн исследования соответствовал международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных исследованиях (1997).

В качестве теоретической и методологической основы использовались методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств отечественных и зарубежных ученых по данной проблеме, с применением рекомендованных методов статистической обработки данных.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Используемые в исследовании психотропные лекарственные средства оказывали разнонаправленное действие на нарушения фоновой синаптической передачи в медиальной префронтальной коре при моделировании у крыс сахарного диабета, хронического воспаления и побочного действия дексаметазона.
2. Средства патогенетического действия и диазепам незначительно влияли на нарушения длительных потенциации и депрессии в синапсах коры, а другие исследуемые вещества обращали эти нарушения при моделировании соматической патологии.

3. Выявлен определенный параллелизм во влиянии исследуемых лекарственных веществ на нарушения синаптической пластичности нейронов коры и на рост уровней депрессивности, тревожности и замедление воспроизведения навыков обучения при моделировании соматической патологии.
4. Если психотропное средство восстанавливает нарушенную синаптическую длительную потенциацию в коре при моделировании патологии, то оно понижает уровень депрессивности и ускоряет воспроизведение навыков обучения. Однако этого условия недостаточно для снижения уровня тревоги.
5. Используемые лекарственные вещества проявляют частичную корригирующую активность в отношении нарушений поведения. Только верапамил умеренно ослабляет все наблюдаемые нарушения поведения.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД

Автором самостоятельно проведен поиск и анализ отечественных и зарубежных источников литературы по изучаемой проблеме, выполнена экспериментальная часть работы, проведены статистическая обработка и описание результатов исследования. Автор принимал участие в формулировке задач, выводов и научно-практических рекомендаций. При его участии проведен подбор методов и дизайн исследования, разработаны протоколы экспериментов. Автором не были использованы результаты и идеи, которые принадлежат соавторам опубликованных работ.

СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ И АПРОБАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, применением специализированного и высокотехнологичного оборудования, общепринятых методов и критериев статистической обработки данных. Материалы работы докладывались и обсуждались на V съезде фармакологов Украины (Киев, 2011), на конференции молодых фармакологов Украины (Киев, 2012)

По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 5 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

ОБЪЁМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы, трёх глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, списка сокращений и списка литературы, включающего 171 источников, из них 45 отечественных и 126 зарубежных авторов. Работа проиллюстрирована 24 рисунками и 11 таблицами.

ГЛАВА 1.

ДЕПРЕССИВНЫЙ СИНДРОМ ПРИ СОМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

(Обзор литературы)

Депрессивный синдром в наиболее типичном виде характеризуется следующими признаками: резкое снижение жизненного тонуса, чувство слабости и повышенной утомляемости, явления двигательного беспокойства вплоть до развития ажитированных состояний или, наоборот, двигательной и мыслительной заторможенности с возникновением субступорозных или даже ступорозных состояний. Сниженное, унылое настроение, самоупреки, чувство вины, идеи самообвинения и самоуничужения, мысли о самоубийстве и стремление осуществить их. Расстройство сна - бессонница или гиперсомния. Потеря интереса к своим обязанностям и профессиональной деятельности, снижение способности концентрировать внимание, моноидеизм; трудности в переработке новой информации и осуществлении выбора; снижение влечения и интереса к событиям, которые приносят удовольствие [1,64,135]. Следовательно, характерные черты депрессивного синдрома – нарушение оценки эмоционального значения внешних и внутренних стимулов, приводящее к доминированию негативных эмоций и нарушению мышления.

Несмотря на относительную простоту психопатологической структуры депрессивных состояний, выделяют большое количество их клинических форм, существенно отличающихся друг от друга. Многообразие форм депрессии может быть связано с клиническим выражением разных стадий психического расстройства, либо отражает многообразие причин, вызывающих депрессию [13,34,38]. Разные авторы предлагают различные варианты классификаций депрессии как болезни, которые в общем можно свести к следующему варианту: меланхолическая депрессия, которая характеризуется выраженными симптомами с нейровегетативными нарушениями; реактивная депрессия с умеренно

выраженной симптоматикой, вызванная внешними, часто стрессогенными факторами; психотическая депрессия с выраженной симптоматикой вследствие бреда (кажущееся наказание за ошибки прошлых лет) или галлюцинаций (угрожающие голоса и т.п.); атипичная депрессия, связанная с лабильным настроением, гиперсомнией, увеличением аппетита и массы тела; дистимия с умеренной симптоматикой, длительностью в несколько недель (сезонная депрессия в зимний период) [33,48,126,127].

В Международной классификации болезней № 10 (МКБ 10) классификация депрессивных расстройств представляет существенные трудности в связи с большим объемом диагностических рубрик и их представленностью в разных разделах. Аффективные расстройства (F30-F39) представлены в 40 диагностических рубриках. Невротические, связанные со стрессом, и соматоформные расстройства (F40-F48) с учетом смешанных тревожно-фобических расстройств занимают 20 диагностических рубрик [40].

Анализ депрессии как отдельной нозологической единицы, неотвратимо ведет к появлению новых диагнозов в связи с коморбидностью и увеличением количества субсиндромов. Более того, отдельная область нейронаук - биологическая психиатрия, из-за невероятной сложности заболевания вместо поиска ключевых, центральных коррелятов депрессии в большей степени фиксирует внимание на коррелятах специфических компонентов отдельных синдромов депрессии. Это лишний раз подчеркивает, что депрессия - комплексное расстройство и многомерный феномен. Очевидно, что определенная степень депрессивности присуща многим индивидуумам, которые, тем не менее, не достигают необходимого набора диагностических критериев [33,127]. Считают, что нет естественной и четкой границы между дистимией, большим, малым и остаточным субсиндромами депрессивного уровня [89,92]. Всё это части психопатологического континуума с общими депрессивными чертами. Однако,

отдельные части этого континуума могут быть синдромами недепрессивной природы [37,38,110,138].

Главный клинический симптом депрессии - снижение настроения, все слои населения ассоциируют именно с депрессией. В то же время, отсутствуют убедительные доказательства того, что первичный нейрофизиологический дефект при этом заболевании локализован именно в тех структурах головного мозга, которые формируют ощущения и мотивации. С другой стороны, назначение антидепрессантов здоровым людям не оказывает выраженного влияния на их настроение. Исследования уровня метаболизма в мозге по степени захвата 2-дезоксид-Д-глюкозы показывает, что усиление метаболизма, а следовательно, возбуждение имеет место в миндалевидном комплексе. Наблюдаемое усиление утилизации глюкозы параллельно выраженности отрицательных эмоций и стойкости фиксации негативных сторон жизни в памяти. Тем не менее, остается не ясным, носит ли наблюдаемое возбуждение миндалевидного комплекса тонический или фазический характер. Кстати, точно такая же амигдаларная реакция наблюдается и у здоровых людей, когда они сталкиваются с неразрешимыми задачами [127,132].

При ряде соматических заболеваний часто возникает депрессивный синдром, но связь между ними довольно сложная. Если соматическое заболевание осложняется депрессивным синдромом, то это ведет к снижению качества жизни, делает соматическое заболевание более тяжелым и увеличивает инвалидность и смертность. Другие осложнения коморбидности соматического заболевания и депрессии приводят к более длительному пребыванию в стационаре, усилению соматических симптомов заболевания, снижению эффективности, но увеличению стоимости медикаментозной терапии [129].

Существуют трудности в дифференцировке депрессивных и соматических симптомов заболевания. Такие симптомы как бессонница, потеря аппетита,

анергия, снижение либидо являются проявлением и депрессии, и соматических заболеваний. Это затрудняет выявление истинной природы этих симптомов [89].

1.1.. Депрессивный синдром и боль.

Очень часто боль и депрессия коморбидны. Эпидемиологические исследования показывают, что у 52% пациентов с хроническим болевым синдромом различной природы имеет место депрессивный синдром. Более того, у 65 % больных различными формами депрессии выявлена соматическая боль. Почти 70% больных большой депрессией жалуются на умеренную боль различной локализации, и только 38% больных другими душевными заболеваниями отмечают болезненные симптомы [93].

Коморбидность боли и депрессии негативно сказывается как на течении депрессии, так и на соматическом заболевании. Аллостаза, определяют как способность организма поддерживать стабильность, приспособляясь путем изменений регуляторных функций к внешним или внутренним стрессогенным воздействиям. Эта адаптация позволяет избегать негативных последствий стресса и продолжать выживание. Но высокий уровень активности стресс-лимитирующих систем способствует накоплению аллостатической нагрузки, в результате чего субъект становится более восприимчивым к заболеваниям [38,54,127]. Интенсификация аллостатической нагрузки и восприимчивость к болезни широко варьируют у разных субъектов в зависимости от генетической и фенотипической предрасположенности [58]. Так установлено, что полиморфизм промоторной области гена серотонинового транспортера ослабляет реакцию субъекта на стресс, а соматическая или психологическая травма в детстве предрасполагает к развитию депрессии [1,127]. Хроническая боль, как мощная аллостатическая нагрузка организма, является выраженным фактором риска развития депрессии [51,126].

У больных с хроническим болевым синдромом либо эндогенной депрессией выявлены нарушения деятельности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [43, 87,131]. Установлено, что функционирование ГГНС контролируется гиппокампальной формацией и миндалевидным комплексом. Гиппокамп оказывает мощное ингибирующее действие на нейроны паравентрикулярного ядра гипоталамуса, продуцирующие кортикотропин высвобождающий фактор (КВФ), а миндалина возбуждает указанные нейроны. Глюкокортикоиды в физиологических концентрациях в плазме крови и мозге повышают активность гиппокампа. При повышении уровня кортикостероидов на фоне хронической боли угнетается активность нейронов гиппокампа, происходит их повреждение и угнетается нейрогенез в зубчатой извилине [60,152,165,167]. В исследованиях на грызунах установлено, что при повышении уровня глюкокортикоидов наблюдается уменьшение количества синапсов и уменьшение объема нейропиля за счет нейронов [134,159]. Это ослабляет тормозные влияния гиппокампа на паравентрикулярное ядро гипоталамуса, в результате чего повышается уровень КВФ, который стимулирует свои рецепторы в нейронах миндалины. Активация нейронов базолатерального отдела миндалины способствует развитию индуцируемой хронической болью тревоги [92,134].

Помимо дорсального гиппокампа другие лимбические структуры вовлекаются в реакцию организма на хроническую боль. С помощью магниторезонансной спектроскопии установлено, что при воздействии боли происходит повышение активности передней поясной коры (ППК) и правой вентральной префронтальной коры (ПФК). Активация ППК определяет аффективный компонент боли, а уровень активации этого отдела коры коррелирует с уровнем депрессии [2]. По сравнению со здоровыми субъектами у больных большой депрессией выявлена относительная гиперактивация ПФК на термальные болевые стимулы, а транскраниальная магнитная стимуляция

дорсолатеральной ПФК ослабляет болевую чувствительность кожи и симптомы депрессии [49].

Миндалевидный комплекс также играет важную роль во взаимодействии между болью и депрессией, болью и тревогой. Так, блокада CRF1 рецепторов в миндалине угнетала тревожное состояние и ноцицептивную реакцию при вызванном введением коалина каррагинана артрите коленного сустава у крыс [107]. Предложена гипотетическая модель модуляции боли положительными и отрицательными эмоциями на уровне миндалевидного комплекса. В соответствии с этой моделью отрицательные эмоции повышают активность миндалины, в то время как положительные эмоции, напротив, деактивируют миндалину. В свою очередь миндалина связана с проводящими боль путями и в состоянии усиливать или ослаблять восприятие боли. Одни отрицательные эмоции (страх, стресс) активируют угнетающие проведение боли пути в миндалине и ослабляют боль; другие отрицательные эмоции (тревога, депрессия) активируют облегчающие проведение ноцицептивной информации пути и усиливают боль. Положительные эмоции угнетают пути облегчающие проведение боли и ослабляют болевую реакцию [83, 84].

К числу структур среднего и продолговатого мозга, которые модулируют болевые реакции и вовлечены в развитие депрессии относят центральное серое вещество периакведукта (ЦСВ), дорсолатеральное понто-теgmentальное ядро и ростральный вентромедиальный отдел продолговатого мозга (РВМПМ). Этот ансамбль заднемозговых структур контролирует передачу ноцицептивной информации на уровне спинного мозга и тройничного нерва благодаря нисходящим проекциям, включающим и выключающим нейронам РВМПМ, осуществляющим двухсторонний контроль [131].

Нисходящие норадрен- и серотонинергические пути могут активировать включающие и выключающие нейроны РВМПМ. Оба моноаминергические пути проецируются, помимо того, в задние рога спинного мозга, на которые оказывают

ингибирующие влияния. В нормальных условиях эти ингибирующие влияния умерены, но в условиях острого стресса они полностью угнетают проведение ноцицептивных стимулов. Восходящие же проекции норадрен- и серотонинергических нейронов направлены к переднемозговым структурам, которые контролируют настроение, эмоции, когнитивные процессы. Нарушения функций восходящих проекций приводит к развитию депрессии. Поэтому моноаминергические нейроны напрямую связывают боль и депрессию, и нарушение их функциональной активности может провоцировать или усиливать либо боль, либо депрессию или одновременно то и другое [35,56,118].

В патогенез боли и депрессивного синдрома вовлечены некоторые нейротрофины. Ведущая роль отводится основному нейротрофину мозга – BDNF, который через посредство рецепторной тирозинкиназы B, особенно в гиппокампе, вовлечен в дифференцировку и выживание нейронов, нейрогенез, поддержание морфологии нейронов, синаптогенез, синаптическую пластичность, обучение и память [60,69,90].

Развитие вызванной хроническим стрессом поведенческой депрессии у животных сопровождалось снижением уровня BDNF в гиппокампе и эти изменения обращались хроническим введением антидепрессантов [58,88]. У жертв суицида, которые не принимали антидепрессантов, выявлено снижение уровня в гиппокампе и вентральной ПФК, в то же время в мозге больных депрессией, которые лечились антидепрессантами, экспрессия BDNF была более высокой [59, 169]. У субъектов с гетерозиготной мутацией гена BDNF выявлено уменьшение объема гиппокампа и нарушение гиппокамп-зависимых форм памяти, но отсутствовал консенсус в вопросе: к депрессии или тревоге предрасполагает эта мутация? У мышей с гомозиготной мутацией гена BDNF наблюдали развитие тревожного поведения, которое нормализовалось антидепрессантами [58,59]. У животных, подвергнутых воздействию болевого стресса, наблюдали снижение уровня данного нейротрофина в мозге. В отличие

от гиппокампа, в спинном мозге болевые стимулы усиливают экспрессию BDNF, который вероятно вовлечен в центральную сенситизацию боли [133]. Интересно, что хроническое введение имипрамина перед болевой стимуляцией предотвращает усиление экспрессии гена BDNF в гиппокампе и спинном мозге, но не вызывает поведенческой анальгезии. С другой стороны, неопиоидный анальгетик индометацин обращает ап-регуляцию BDNF в спинном мозге, но не в гиппокампе и уменьшает периферическую гиперальгезию [1,11,59]. Следовательно, ни анальгетики, ни антидепрессанты сами не могут полностью предотвратить поведенческие и молекулярные эффекты персистентной боли.

Поскольку норадрен- и серотонинергические нейроны вовлечены в патогенез депрессии и боли, неселективные и селективные ингибиторы реаптейка норадреналина и серотонина имеют определенную терапевтическую эффективность в лечении депрессии и хронической боли [97]. Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС) менее эффективны в ситуации, когда нейропатическая боль сочетается с депрессией [56,133]. С другой стороны, селективные ингибиторы обратного захвата норадреналина (СИОЗН) обладают антидепрессивным и обезболивающим действием, причем последнее независимо от антидепрессивного действия [55,136]. Устранение симптомов депрессии и хронической боли наблюдалось при назначении СИОЗН больным с большой депрессией, а также в подгруппах, включающих женщин в постменопаузе, больных артритом, и больных меланхолической депрессией. СИОЗН обнаруживают обезболивающую активность у больных с фибромиалгией, при сочетании большой депрессии и мультисоматоформных расстройств, у больных с тригеминальной невралгией, причем в последнем случае анальгетическая активность умеренная. Менее четкие результаты получены для СИОЗС. При сочетании синдрома раздраженного кишечника и депрессии эта группа антидепрессантов оказалась неэффективной [105,156]. В других исследованиях анальгетическая активность этой подгруппы антидепрессантов

была установлена у больных с синдромом раздраженного кишечника или абдоминальной болью другого генеза [137,156].

Что касается трициклических антидепрессантов (ТЦА), то их анальгетическая активность выявлена у больных с постгерпетической невралгией, нейропатической болью после травм спинного мозга, фибромиалгией, диабетической нейропатической болью, тригеминальной болью, хронической головной и постинсультной болью. Однако широкое использование ТЦА ограничено множеством присущих этой подгруппе антидепрессантов побочных эффектов [144].

Таким образом, патогенез депрессии и патогенез хронической боли имеют ряд перекрывающихся областей, как нейрофизиологических, так и нейрохимических. Перекрывающиеся нейрофизиологические области включают лимбические структуры мозга – гиппокамп, миндалевидный комплекс, различные зоны префронтальной коры, структуры и ядра среднего и продолговатого мозга. Нейрохимически области представлены глутаматергическими, ГАМКергическими, моноамин- и пептидергическими структурами. Очевидно, что функциональные и морфологические нарушения в этих областях сопровождаются развитием хронической боли и/или депрессивного синдрома. Поэтому восстанавливающие функциональную активность этих систем антидепрессанты эффективны при депрессивном синдроме и при хронической боли, хотя соотношение этих двух видов активности может широко варьировать.

1.2. Воспаление и депрессивный синдром.

Несмотря на значительное количество публикаций, посвященных связи между депрессией и воспалением, их результаты противоречивы. Одни исследователи выявили наличие такой связи [43,44, 135], а другие исследователи ее не обнаружили [73]. Соматические депрессивно-подобные симптомы

(усталость, нарушения сна, анорексия, двигательная ретардация) могут быть следствием воспаления. Возможно, что соматические симптомы обнаруживают более тесную связь с воспалением, чем когнитивные симптомы [65]. Выдвигается предположение, что более выраженные депрессивные симптомы обусловлены более высокими уровнями провоспалительных цитокинов – интерлейкина-6 (ИЛ), фактора некроза опухолей альфа (ФНО) и С-реактивного белка, при чем последние запускают преимущественно соматические, а не когнитивные симптомы депрессии. Аналогично при воспалении выделяют соматические и когнитивные симптомы тревоги, причем у мужчин более высокий уровень С-реактивного белка определяет оба симптома, соматические и когнитивные симптомы тревоги, в то время как высокие уровни ИЛ-6 и ФНО определяют только соматические симптомы [139]. Установлено, что эндотоксин грамотрицательных бактерий – липополисахарид, являющийся мощным стимулятором иммунной системы организма, при системном введении грызунам угнетает исследовательскую активность, социальные взаимодействия, снижает потребление пищи и увеличивает продолжительность сна, т. е. способствует развитию депрессивного фенотипа [150]. Введение людям липополисахарида в дозе 2 – 4 нг/кг вызывает повышение температуры, слабость, головную боль, миалгии; в более низких дозах (0,8 нг/кг) эндотоксин не вызывает гриппоподобных симптомов, но вызывает набор депрессивных [150].

У больных с хроническим болевым синдромом выявлено значительное повышение уровней провоспалительных цитокинов – ИЛ-6, ИЛ-1-бета, ФНО [86,87]. С другой стороны, у больных большой депрессией без других заболеваний повышена активность сигнальных путей воспаления [86]. Цитокины, которые выделяются из иммунокомпетентных клеток проникают в мозг и могут изменять метаболизм моноаминов, в первую очередь серотонина [86]. Накапливающиеся в мозге провоспалительные цитокины нарушают функциональную активность моноаминергических и глутаматергической систем. Воздействуя на микроглию и макрофаги, интерфероны, интерлейкины и ФНО

вызывают усиление экспрессии фермента индоламин 2,3-диоксигеназы (ИДО), который превращает триптофан в кинуренин [130]. Это приводит к тому, что часть триптофана извлекается из общего кругооборота и, следовательно, в мозге снижаются уровни серотонина и мелатонина. В условиях вызванного интерфероном депрессивного синдрома в плазме крови повышается уровень кинуренина. Назначение антидепрессантов ингибиторов обратного захвата серотонина устраняет симптомы депрессии, но уровень кинуренина при этом не изменяется [130]. Выявлено также, что хроническое, в течение 9 недель введение крысам интерферона-альфа вызывало дегенерацию норадрен- и серотонинергических нейронов, а моноаминергические нейроны вовлекались в развитие депрессии.

Усиление активности ИДО способствует образованию двух метаболитов, обладающих сродством к глутаматным НМДА-рецепторам: агониста - хинолиновой кислоты и блокатора НМДА-рецепторов - кинуреновой кислоты, которые продуцируется микроглией [121]. При этом воздействие провоспалительных цитокинов на микроглию приводит к увеличению соотношения продуцируемых клетками хинолиновая кислота/кинуреновая кислота. Хинолиновая кислота не только активирует НМДА-рецепторы, но и высвобождает глутамат из терминалей глутаматергических аксонов и глиальных клеток, что создает предпосылки для накопления возбуждающих аминокислот во внеклеточных пространствах мозга [104].

Кроме того, проникающие в мозг цитокины усиливают высвобождение из паравентрикулярного ядра КВФ и повышают уровень глюкокортикоидов в плазме крови. У больных большой депрессией выявлена позитивная корреляция между воспалительной реакцией (судя по уровню цитокинов) и гиперактивностью ГГНС [87,163,169], а во время ремиссии оба эти показателя нормализуются. Интересно, что у больных депрессией, у которых во время ремиссии активность ГГНС не нормализовалась, быстрее возобновлялась депрессивная симптоматика.

В мембранах нейронов и глиальных клеток имеются рецепторы цитокинов. В настоящее время более изучены рецепторы интерлейкинов – ИЛ-1 и ИЛ-6. Это метаболитные, связанные с G-белками рецепторы, активация которых запускает сигнальные процессы, опосредуемые активацией протеинкиназы C и/или протеинкиназы ERK1. Активация рецепторов ИЛ сопровождается изменением функциональной активности потенциалозависимых натриевых и кальциевых каналов, глутаматных НМДА- и аминоксидрокси-5метил-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA) рецепторов, ГАМК_A-рецепторов [1]. В кортикальных нейронах интерлейкины угнетают натриевые и кальциевые токи и снижают возбудимость нейронов. В мембранах нейронов коры и гиппокампа рецепторы интерлейкинов располагаются рядом с глутаматными НМДА-рецепторами. Активация рецепторов интерлейкинов, особенно хроническая, существенно повышает функциональную активность НМДА-рецепторов и способствует эксайтотоксическим повреждениям нейронов. Активация рецепторов интерлейкинов в мембранах нейронов коры и гиппокампа вызывала снижение уровня фосфорилирования и экспрессии в постсинаптических мембранах GluR1 субъединицы глутаматных AMPA-рецепторов. В пирамидных нейронах гиппокампа интерлейкины в пМ диапазоне концентраций угнетали пиковую амплитуду токов, индуцируемых активацией ГАМК_A-рецепторов, т.е. ослабляли ГАМКергическое торможение. Наконец, в исследованиях *in vivo* и на срезах мозга установлено, что при воздействии интерлейкинов происходит усиление пресинаптического высвобождения глутамата и повышение его концентрации во внеклеточных пространствах мозга; при этом имеет место ослабление пресинаптического высвобождения тормозного медиатора ГАМК [50]. Таким образом, воздействие воспалительных цитокинов на мозг вызывает нейрохимические изменения, характерные для депрессии – повышение функциональной активности содержащих NR2B субъединицу глутаматных НМДА - рецепторов, даун-регуляция глутаматных AMPA-рецепторов, ослабление ГАМКергического торможения, повышение внеклеточного уровня

возбуждающего медиатора глутамата [50]. На эти нейрохимические изменения накладываются последствия повышения активности циклооксигеназ и роста в мозге уровней простагландинов, а также воздействие боли, поскольку боль является одним из симптомов воспаления. Все эти обстоятельства затрудняют лечение депрессивного синдрома на фоне воспаления.

1.3. Депрессивный синдром при эндокринологических заболеваниях. Сахарный диабет.

Различные эндокринологические заболевания вызывают разнообразные нарушения деятельности головного мозга, одним из которых является депрессивный синдром. Установлена четкая связь между изменениями продукции гормонов щитовидной железы, гормонов коры надпочечников и развитием депрессии [41,43]. В ряде исследований больных первым типом сахарного диабета (СД1) установлено, что персистентная гипергликемия [82], а также микро- и макрососудистые осложнения приводят к нарушению когнитивных и эмоциональных процессов у больных СД1 [18,53,83,147]. С помощью протонной магниторезонансной спектроскопии установлено линейное соответствие между периферической гипергликемией и уровнем глюкозы в мозге здоровых добровольцев [11]. Известно, что метаболизм глюкозы в мозге и цикл Кребса сопряжены с глутамат/глутаминовым циклом, поэтому повышение уровня глюкозы в мозге может сопровождаться усилением образования глутамата. Реальность этой возможности подтверждается клиническими наблюдениями, согласно которым даже на ранней стадии СД1 повышается экспрессия и активность глутаматдекарбоксилазы, конвертирующей глутамат в ГАМК [50]. Поддержание оптимального баланса глутамата в мозге критически важно для его нормального функционирования. В тоже время, наши знания и представления о последовательности событий, начинающихся с повышения уровня глюкозы в мозге, приводящих к нарушению глутаматного гомеостаза, ослаблению

когнитивных процессов и развитию депрессивного синдрома далеки от завершения. Тем не менее, к настоящему времени накоплены определенные факты и знания.

Так, в условиях экспериментального моделирования СД1 у крыс установлено, что персистентная гипергликемия приводила к изменениям субъединичной композиции и подтипов глутаматных рецепторов в нейронах гиппокампа [161]. Это может быть гомеостатической реакцией постсинаптического аппарата глутаматергических синапсов на повышение внеклеточного уровня глутамата. Помимо этого установлено нарушение синтеза и активности нейротрофинов при моделировании и у больных СД1 [100]. С учетом мощного нейропротективного действия нейротрофинов их даун-регуляция при СД1 может быть одной из причин ухудшения морфологии и функционального состояния мозга, приводящего к развитию депрессивного синдрома. Поэтому вещества, модулирующие гомеостаз глутаматергической системы мозга могут быть полезными в предотвращении когнитивных и аффективных расстройств [17,30]. У больных с более низким контролем заболевания, у которых уровень гликозилированного гемоглобина более 8%, демонстрируют негативную корреляцию между уровнем глюкозы в ПФК и когнитивными функциями. Это указывает на то, что существует порог гликемического контроля уровней глюкозы в мозге, при котором происходит нарушения когнитивных и эмоциональных функций. Депрессия наблюдается почти у 25 % больных СД1 и это осложнение болезни существенно снижает качество жизни [120]. Своеобразие патогенеза депрессии при СД1 сводится к ведущей роли нарушений глутаматергического гомеостаза и, по-видимому, это определяет резистентность больных СД1 к стандартной антидепрессивной терапии [114,169]. В нарушении глутаматергического гомеостаза помимо гипергликемии существенную роль играет также повышение титра антител к глутаматдекарбоксилазе и это имеет два последствия: снижение скорости утилизации глутамата и нарушение образования

ГАМК – тормозного медиатора, который может противодействовать эксайтотоксическому действию глутамата. Наконец, в мозге больных СД1 выявлен повышенный уровень мио-инозитола, который является осмотическим агентом и резервным источником глюкозы [124]. Это свидетельствует о нарушении осмотического баланса.

В отличие от СД1, сахарный диабет второго типа (СД2, инсулин-независимый) имеет ряд особенностей, которые определяют особенности развития депрессивного синдрома при СД2. В этом случае появление депрессивных симптомов сопряжено с метаболическими и поведенческими факторами риска. Первый из них избыточный вес за счет жировой ткани, которая, с одной стороны, определяет резистентность к инсулину и, с другой стороны, вынуждает человека менять поведение в связи с необходимостью ограничивать диету для уменьшения веса тела и увеличивать физическую активность [77]. Далее, депрессивные симптомы при СД2 связаны с повышением активности ГГНС и симпатoadреналовой системы, а также хроническим воспалением [53, 115]. Действительно, у больных СД2 с более высоким уровнем ИЛ-6 и С-реактивного белка гораздо чаще наблюдаются симптомы депрессии [68]. У больных СД2 имеющаяся связь между уровнем гипергликемии и состоянием глутаматергической системы мозга размывается другими факторами (тучностью, дисбалансом ГГНС и симпатoadреналовой систем, хроническим воспалением) и не столь однозначна, как при СД1.

У больных обоими типами сахарного диабета наблюдается высокий уровень тревоги. Распространенность генерализованного тревожного расстройства при СД1 и СД2 колеблется от 14 до 40 % [95]. Значение тревожных расстройств при диабете крайне негативно. Вегетативные расстройства при тревожном синдроме, такие как связанные с активацией симпатoadреналовой системы слабость, потливость, тремор, головокружения могут имитировать гипогликемическое состояние, что требует дополнительного контроля гликемии.

Ведущим методом лечения депрессивного и тревожного синдромов при СД1 и СД2 является использование психофармакологических средств, в первую очередь антидепрессантов. В литературе имеются данные, согласно которым ТЦА и СИОЗС уменьшают тяжесть симптомов депрессии у больных сахарным диабетом [12,13]. При сочетании тревоги и депрессии, особенно с преобладанием первой, предпочтение отдается антидепрессантам с анксиолитическим компонентом действия (амитриптилин, мirtазапин), либо препаратам с выраженным противотревожным действием (альпрозалам). В тоже время, большинство исследователей указывает на весьма умеренную терапевтическую активность антидепрессантов в отношении депрессивных симптомов при СД1 и СД2. Еще один аспект психофармакотерапии антидепрессантами заслуживает внимания. В последнее время появляются данные, согласно которым антидепрессанты могут изменять обмен глюкозы и увеличивать массу тела, что приводит к инсулиновой резистентности [148]. Так, селективные ингибиторы реаптейка моноаминов нарушают гликемический контроль у больных диабетом, трициклические антидепрессанты вызывают гипергликемию у людей и гиперинсулинемию у мышей [78]. Таким образом, лечение депрессивного и тревожного синдромов у больных диабетом далеко от совершенства и нуждается в разработке новых подходов.

Таким образом, проведенный анализ литературных источников позволяет прийти к следующим выводам:

1. Большинство соматических заболеваний индуцируют развитие психопатологических процессов, в первую очередь тревожного и депрессивного синдромов.

2. Связь между соматическими и психическими нарушениями при различных соматических заболеваниях разработана недостаточно, кроме проявлений депрессии на фоне хронического болевого синдрома.

3. Нейрофизиологическая и нейрохимическая природа депрессивного и тревожного синдромов при различных соматических заболеваниях нуждаются в дальнейшей детальной разработке и уточнениях.

4. Необходимы дальнейшие доклинические фармакологические исследования, направленные на повышение эффективности фармакотерапии психических расстройств при соматических заболеваниях.

ГЛАВА 2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 324 нелинейных крысах. Животные были получены из питомника Киевского Института Физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины. Все животные содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением всех правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в соответствии с рекомендациями ВОЗ по экспериментальной работе с использованием животных. Проведение экспериментов осуществлялось в соответствии с требованиями Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук и международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997). Исследование было одобрено региональным комитетом по биоэтике ГУ Донецкого медицинского национального университета им. М. Горького (протокол № 118/16 от 30 октября 2009г).

2.1.ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки когнитивных, эмоциональных и мотивационных составляющих целостных поведенческих актов исследовали поведение животных в условиях вынужденного плавания, в аппарате приподнятый крестообразный лабиринт, в открытом поле, целенаправленного избегания аверсивного воздействия.

2.1.1.Исследования уровня депрессивности.

Уровень депрессивности животных определяли по общепринятой методике, теста вынужденного плавания, разработанной Порсолтом [19,52]. Крыс помещали в аквариумы высотой 50см, заполненные водой на 2/3 высоты; с температурой воды 22-25°C. Регистрировали время иммобилизации крыс, время

активного плавания, время вскарабкивания животных на стенки аквариума (climbing).

Иммобилизация, «поведение отчаяния», проявлялась вертикальным положением крыс в воде, пассивным плаванием без движений конечностями, причем передние лапы были прижаты к груди, задние вытянуты. Регистрировали продолжительность иммобилизации в секундах в течение сеанса вынужденного плавания, продолжительностью 300 сек.

Активное плавание характеризовалось горизонтальным положением крыс в воде, приподнятой над уровнем воды головой животных и энергичными движениями передними и задними лапами. Во время вскарабкивания животные принимали вертикальное положение, интенсивно работая лапами пытались взобраться на стенки аквариума. Поскольку наиболее информативным показателем уровня депрессивности животных является время иммобилизации [19,52], в исследованиях использовался именно этот показатель.

2.1.2. Исследования уровня тревожности.

Уровень тревожности крыс определяли по общепринятой методике [19] с помощью аппарата приподнятый крестообразный лабиринт (рис. 1). Данная методика является наиболее адекватным и информативным методом определения уровня тревожности [19].

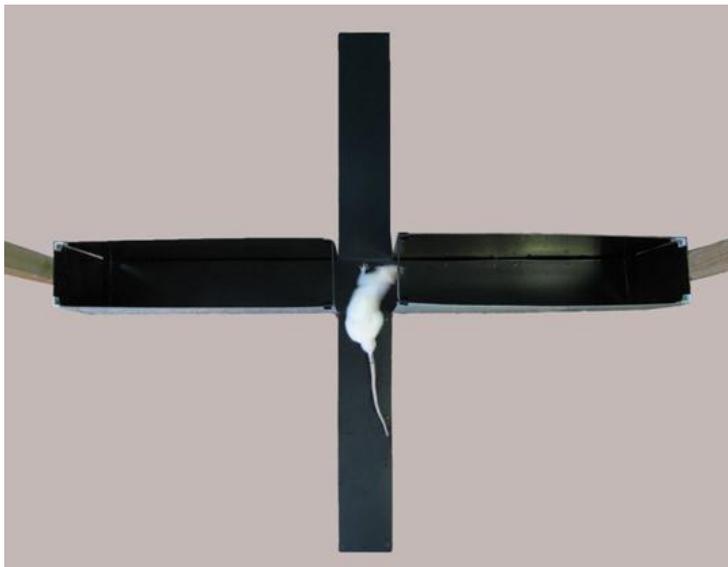


Рис. 1. Аппарат приподнятый крестообразный лабиринт.

Аппарат представляет собой квадратную площадку размером 10 x 10см и четыре расположенных перпендикулярно рукава размером 50 x 10см, два из которых ограничены по бокам бортами высотой 10см, а два других – открыты[19]. Лабиринт приподнят над уровнем пола на высоту 80 см. Тестируемое животное помещается в центр площадки мордочкой к одному из открытых рукавов. В течение 5 мин регистрировали время пребывания животных в открытых рукавах в секундах и количество выходов на центральную площадку из закрытых рукавов.

2.1.3. Исследования когнитивных процессов.

Для исследования когнитивных процессов, т. е. способности крыс оценить текущую реальную ситуацию, выбрать соответствующую парадигму поведения и реализовать ее, использовали классический метод условнорефлекторной реакции активного избегания [19]. Установка представляет пластиковую камеру размером 50 x 50 x 60 см с электрифицированным полом для электрического раздражения кожи лап. На высоте 45см от пола в центре камеры подвешен стержень соединенный с выключателем от источника питания пола. На этот стержень крыса должна вспрыгивать для избавления от аверсивного воздействия. Условным раздражителем служил звонок, который включался за 5с до

безусловного электроболевого раздражителя лап (50Гц, 1мА). Продолжительность электрической стимуляции лап продолжалась до момента вспрыгивания крыс на стержень, соединённый с выключателем напряжения, подаваемого на электрофицированный пол установки. Определяли количество сочетаний условного и безусловного раздражителей, необходимых для выработки стабильного условного рефлекса и минимальное латентное время воспроизведения условного рефлекса активного избегания.

2.2.ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для регистрации электрической активности нейронов переднего мозга, вовлеченных в реализацию когнитивных, эмоциональных и мотивационных процессов, исследования проводили в переживающих срезах дорсального гиппокампа (ДГ) и медиальной префронтальной коры (мПФК). Регистрация электрической активности осуществлялась с помощью стандартной установки для электрофизиологических исследований [27], которая состояла из экранированной камеры, в которой находилась система жизнеобеспечения среза – постоянно оксигенируемая перфузионная система, система терморегуляции, микроманипуляторы для перемещения отводящего микроэлектрода и стимулирующего электрода. Основными элементами установки являются микроэлектрод, соединенный со входом дифференциального усилителя УБФ-4. Сигнал с выхода усилителя подается на осциллограф С-65 для его текущей визуализации. Параллельно, этот же сигнал поступает на вход аналого-цифрового преобразователя (АЦП) Digidata 1024 и после оцифрования фиксируется на жестком магнитном диске персонального компьютера. Стимуляция синаптических входов осуществляется с помощью электронного стимулятора ЭСУ-2. Прямоугольные импульсы тока от стимулятора подавались на контактирующий со срезом биполярный нихромовый электрод через

изолирующий трансформатор. Синхроимпульс от ЭСУ-2 запускает развертку осциллографа.

2.2.1. Приготовление срезов.

Крыс наркотизировали кетаминном внутривенно в дозе 50 мг/кг и подвергали декапитации. После этого вскрывали череп и из него извлекали головной мозг, который тот час охлаждали раствором для препарирования, следующего состава в мМ: сахараза – 248; KCl – 3; KH_2PO_4 – 1,25; NaHCO_3 – 26; CaCl_2 – 0,1; MgSO_4 -3; глюкоза – 10. В этом растворе большая часть ионов натрия была замещена сахарозой, в 20 раз понижена концентрация кальция, но в три раза повышено содержание магния. Температура этого раствора поддерживалась на уровне 4 – 6°C. Срезы мПФК выделяли из переднего полюса, а ДГ – из заднего. Соответствующие блоки мозга фиксировали с помощью цианакрилового клея и агарового блока на площадке вибратора (Campden Instruments). Последняя находилась в ванночке заполненной охлажденным и насыщенным карбогеном (смесь 95 % O_2 и 5 % CO_2) раствором для препарирования. С помощью вибратора готовили продольные срезы мозга, содержащие прелимбическую и инфраламбическую области мПФК, либо ДГ толщиной 400 – 450 мкм. Далее из срезов выделяли необходимую для исследований область, которую переносили в инкубационную камеру объемом 3 мл. Через эту камеру постоянно протекал раствор Кребса стандартного состава в мМ: NaCl – 124; KCl – 3; KH_2PO_4 – 1,25; NaHCO_3 – 26; CaCl_2 – 2; MgSO_4 -1; глюкоза – 10 со скоростью 2 мл/мин при температуре 25 ° С. Раствор Кребса в инкубационной камере постоянно насыщался карбогеном. Через 60 – 90 мин пребывания в инкубационной камере срезы мозга переносили для электрофизиологических исследований в рабочую камеру объемом 0,5 мл и фиксировали на дне камеры стимулирующим электродом. В рабочей камере срезы суперфузировали насыщенным карбогеном раствором Кребса со скоростью 2 мл/мин при температуре 28 ± 1 ° С.

2.2.2. Регистрация электрической активности нейронов.

С помощью стеклянных микроэлектродов, заполненных 2 М раствором натрия хлорида и сопротивлением кончика по постоянному току 2 – 5 Мом регистрировали популяционные возбуждающие постсинаптические потенциалы (пВПСП) пирамидных нейронов области CA1 ДГ и V слоя мПФК. Локализация раздражающих электродов и отводящих микроэлектродов в каждой конкретной ситуации имела свои особенности.

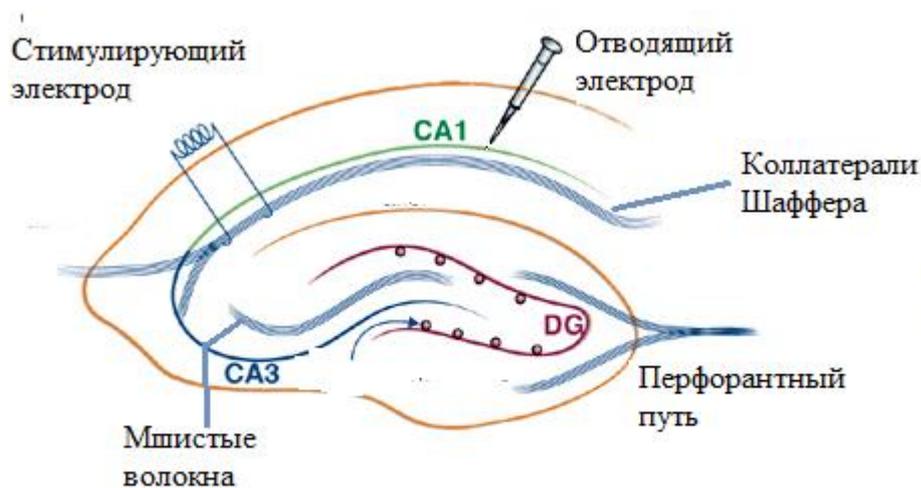


Рис. 2. Локализация стимулирующих и отводящих электродов в срезах ДГ.

Работая со срезами ДГ, отсекали область CA3 для предотвращения спонтанной судорожной активности. Биполярный нихромовый стимулирующий электрод с диаметром филаментов 0,1мм и расстоянием между ними 0,1мм располагали в радиальном слое – в области проекций коллатералей Шаффера. Микроэлектрод также располагали в радиальном слое ближе к зубчатой извилине. Коллатерали Шаффера стимулировали прямоугольными импульсами тока возрастающей интенсивности длительностью 0,1мсек частотой 0,1Гц для получения кривой зависимости амплитуды постсинаптических ответов от интенсивности пресинаптической стимуляции (см. рис. 3).

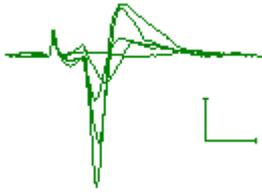


Рис. 3. Зависимость амплитуды пВПСП пирамидных нейронов области СА1 ДГ от интенсивности пресинаптической стимуляции. Интенсивность стимуляции возрастала с шагом в 5 В.

Калибровка: по вертикали 1 мВ, по горизонтали 10 мс.

В срезах мПФК стимулирующий электрод располагали во II/III слоях прелимбической области (PL), а регистрирующий микроэлектрод локализовали в V слое коры ближе к II/III слоям. При стимуляции проходящих во II/III слоях

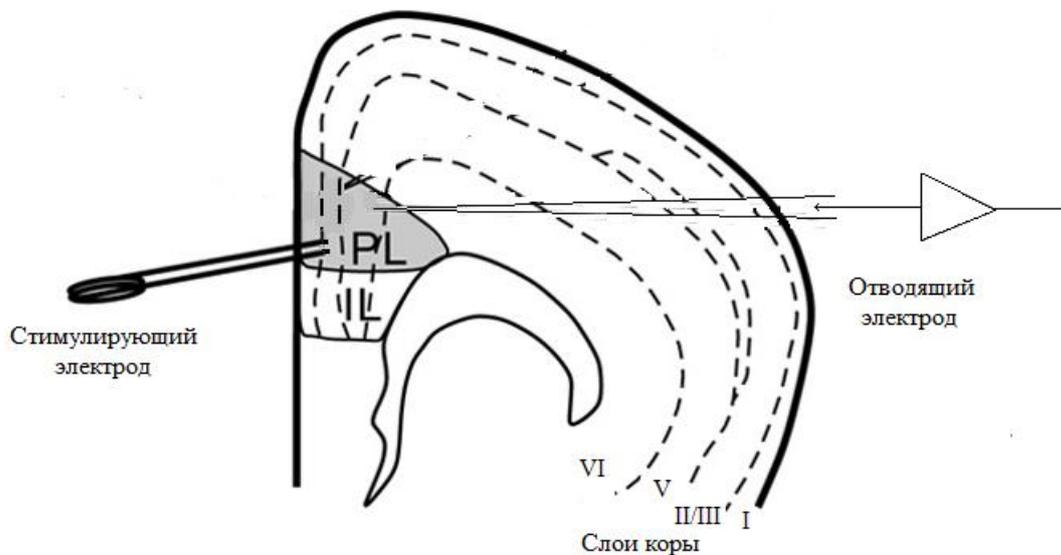


Рис. 4. Локализация стимулирующих и отводящих электродов в срезах прелимбического отдела (PL) мПФК.



Рис. 5. Зависимость амплитуды пВПСП пирамидных нейронов V слоя мПФК от интенсивности пресинаптической стимуляции. Интенсивность стимуляции возрастала с шагом в 5 В.

Калибровка: по вертикали 1 мВ, по горизонтали 10 мс.

таламических афферентов в пирамидных нейронах V слоя мПФК регистрировали пВПСП, амплитуда которых почти линейно возрастала при увеличении интенсивности пресинаптической стимуляции (рис. 5).

Поскольку высвобождаемый из пресинаптических аксонных терминалей глутамат активирует две популяции постсинаптических ионофорных глутаматных рецепторов AMPA и НМДА, которые выполняют в глутаматергических синапсах различные функции, имеется возможность выделить два компонента ВПСП пирамидных нейронов. НМДА-компонент пВПСП пирамидных нейронов выделяли фармакологически. Для этого срезы мозга суперфузировали раствором Кребса со сниженной до 0,2мМ концентрацией Mg^{2+} и добавлением 10 мкМ блокатора AMPA-рецепторов – 6,7-динитрохиноксалин-2,3-диона (DNQX), 50 мкМ неконкурентного блокатора ГАМК_A-рецепторов пикротоксина и 1мкМ коагониста НМДА-рецепторов глицина. AMPA-компонент пВПСП пирамидных нейронов выделяли путем суперфузии срезов мозга раствором Кребса, содержащим конкурентный блокатор глутаматных НМДА-рецепторов D-2-амино-5-фосфоновалериановую кислоту (D-AP5) в концентрации 50 мкМ.

Помимо этого, исследовали две формы пластичности глутаматергических синапсов пирамидных нейронов V слоя мПФК – длительную потенцию и длительную депрессию. Длительную потенцию вызывали четырехкратной с

интервалом 10с тетанической стимуляцией коллатералей Шаффера или таламических афферентов, проходящих во II/III слоях, частой 100с^{-1} длительностью 1 с; интенсивность стимуляции подбиралась таким образом, чтобы амплитуда пВПСП составляла $\sim 1/3$ от максимальной. Длительную депрессию вызывали низкочастотной 5с^{-1} тетанической стимуляцией синаптических входов продолжительностью 10 мин; интенсивность стимуляции подбиралась субмаксимальной ($\sim 0,7-0,8$ от максимальной). После нанесения тетанической стимуляции амплитуду пВПСП пирамидных нейронов регистрировали в течение 30 мин.

Для выяснения природы (пре- или постсинаптическая), наблюдаемых изменений амплитуд пВПСП пирамидных нейронов использовали параметр отношение парного облегчения. В этом случае синаптические входы стимулировали двумя импульсами с фиксированным межимпульсным интервалом (чаще 50мс), регистрировали амплитуды двух последовательных пВПСП и определяли отношение второй к первой.

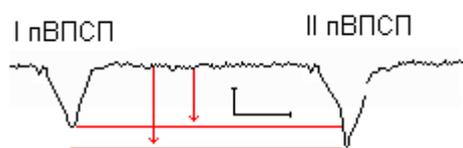


Рис. 6. Парное облегчение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов мПФК при межимпульсном интервале 50 мс. Калибровка: вертикальная 1 мВ, горизонтальная 10 мс.

Если при изменении амплитуды наблюдаемого синаптического потенциала отношение парного облегчения не изменялось, это указывает на постсинаптическую природу наблюдаемого изменения. Если же величина отношения уменьшалась, это указывает на усиление пресинаптического высвобождения.

Каждая серия электрофизиологических опытов на срезах мозга выполнена на 6 – 9 срезах мозга, взятых от 3 – 4 животных.

2.3.МОДЕЛИРОВАНИЕ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ И ПОБОЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ

2.3.1.Моделирование сахарного диабета.

Экспериментальный сахарный диабет вызывали путем одноразового внутрибрюшинного введения крысам аллоксана в дозе 125 мг/кг [28]. Критерием развития заболевания являлось увеличение содержания глюкозы в плазме крови до 15–30мМ. Данный показатель определяли с помощью тест-пластинок и глюкометра фирмы «Azkgauz faktori, Inc» (Япония). Исследования начинали через две недели после введения аллоксана, когда уровень гипергликемии становился стабильным.

2.3.2.Моделирование хронического воспаления .

Хроническое асептическое воспаление у крыс вызывали по методу, предложенному [42]. Животным под кожу спины вводили 0,5 мл 9 % уксусной кислоты; сразу после этого крысам внутрибрюшинно вводили декстран в дозе 200 мг/кг. Через 2 –3 дня на месте введения уксусной кислоты появлялся воспалительный инфильтрат. Об интенсивности воспалительного процесса судили по увеличению лейкоцитов в крови (до $12,65 \pm 1,14$, в сравнении с контролем $4,77 \pm 0,52$), размеру воспалительного инфильтрата (до 3-х см в диаметре) и повышению в крови уровня С-реактивного белка (++,+++; метод иммунодиффузии). Кровь для исследований брали из хвостовой вены. К проведению поведенческих и электрофизиологических исследований приступали на пятые - седьмые сутки после введения крысам флогогенов.

2.3.3. Моделирование побочного действия глюкокортикоидов.

Дексаметазон растворяли в питьевой воде в такой концентрации, чтобы с потребляемой водой крысы получали стероид в дозе 0,5 мг/кг за сутки. Точность дозирования дексаметазона в отдельных сериях исследований колебалась в границах $\sim \pm 10\%$. Животные получали смешанный корм и потребность в воде составляла $21,4 \pm 0,6$ мл/сутки [7]. Находящийся в поилках свежеприготовленный раствор дексаметазона меняли каждое утро в 7.00 часов на протяжении 7 дней. На 8-й день крысам в поилках давали питьевую воду без дексаметазона и в 10.00 – 11.00 часов крыс брали для проведения поведенческих или электрофизиологических исследований.

2.4. ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА

Для моделирования соматической патологии и выяснения нейрофизиологической и нейрохимической природы наблюдаемых поведенческих и нейрональных эффектов использовали следующие вещества: аллоксан (Sigma, США), вводили внутривентриально однократно в дозе 125 мг/кг [29]; декстран в виде препарата Полиглюкин (Красфарма, РФ), вводили внутривентриально в дозе 200 мг/кг [43]; ингибитор обратного захвата норадреналина и серотонина имипрамин (EGYS, Венгрия) вводили внутривентриально; селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин (Биолек, Украина), вводили внутрь со слизью крахмала, оба препарата в максимальных дозах 20 мг/кг один раз в день на протяжении 14 дней [78]; конкурентный блокатор глутаматных НМДА-рецепторов D-2-амино-5-фосфоновалериановая кислота (D-AP5; RBI, США), в концентрации 50 мкМ; конкурентный блокатор глутаматных AMPA-рецепторов 6,7-динитрохиноксалин-2,3-дион (RBI, США), в концентрации 10 мкМ; неконкурентный блокатор ГАМК_A-рецепторов пикротоксин (Merk, ФРГ), в концентрации 100 мкМ; ко-агонист НМДА-рецепторов глицин (Олайнфарма, Литва) в концентрации 1 мкМ – все 4 вещества воздействовали на срезы в течение 20 мин [101]; неконкурентный

блокатор глутаматных НМДА-рецепторов кетамин (Биолек, Украина), вводили внутривенно в дозе 30 мг/кг, вводили 1 раз в день на протяжении 5 дней [113]; блокатор потенциалозависимых Ca^{2+} каналов L-типа верапамил (Orion Pharma Int., Финляндия) вводили внутривенно в дозе 20 мг/кг за час до исследований [162]; позитивный аллостерический модулятор ГАМК_A-рецепторов диазепам (Gideon Richter, Венгрия) вводили внутривенно в дозе 2 мг/кг за 1 час до исследований [57]; селективный блокатор ЦОГ-2 нимесулид (Medicom, Болгария) и неселективный блокатор ЦОГ-1 и ЦОГ-3 парацетамол (ICN Polipharm, Польша), вводили внутривенно в дозах 5 и 10 мг/кг соответственно 1 раз в день в течение 7 дней.

2.5. СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследований обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с помощью лицензионной программы «Medstat» [5,22,32]. Для каждой серии определяли среднюю и стандартную ошибку средней. Результаты анализировали, используя метод ANOVA для оценки различий между более чем двумя группами. Для сравнения различий между двумя группами использовали t тест Стьюдента. Величина $P < 0,05$ расценивалась как статистически значимая. Статистическая обработка связи между изменениями поведения и синаптической активностью исследовались с помощью коэффициентов рангов по Спирмену.

ГЛАВА 3.

НАРУШЕНИЯ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КОРЕ И ГИППОКАМПЕ И ПОВЕДЕНИЯ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА; ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ КОРРЕКЦИИ ЭТИХ НАРУШЕНИЙ

Сахарный диабет является метаболическим заболеванием, при котором нарушаются функции как периферической, так и центральной нервной системы. Энергетическим субстратом для клеток головного мозга является глюкоза, которая подвергается окислению до диоксида углерода и воды [1]. При этом нейроны головного мозга не утилизируют глюкозу непосредственно. Глюкоза поглощается астроглией и превращается в астроцитах в молочную кислоту, которая перемещается в нейроны и окисляется с образованием макроэргических фосфатов [1]. Хотя поглощение глюкозы астроцитами является инсулиннезависимым процессом, при сахарном диабете наблюдается изменение функционального состояния церебральных нейронов и нарушение психических функций, сходные с таковыми в условиях действия стресса и старения мозга [2,6]. У больных с инсулинзависимым сахарным диабетом выявляется понижение уровня N-ацетиласпартата в лобных долях коры, базальных ганглиях, а так же повышение уровней миоинозитола и холина в этих структурах и в височных долях мозга. Снижаются объёмы серого вещества в таламусе, парагиппокампальной, височной и фронтальной областях коры [41]. Известно, что инсулин способен проникать через гематоэнцефалический барьер и в мозге определяется, как инсулин, так и мембранные рецепторы инсулина. Пирамидные нейроны гиппокампа и другие нейронные популяции экспрессируют инсулин подобный фактор роста 1, инсулиновые рецепторные субстраты 1 и 2, инсулиновый рецепторный субстрат p58/p53 и инсулиновые рецепторы [45]. Поэтому наблюдаемый при сахарном диабете дефицит инсулина вызывает нарушение функций головного мозга. Эти изменения проявляются изменениями

синаптической передачи, электрофизиологическими дефектами, структурными изменениями, а так же умеренными расстройствами памяти и обучения [100]. На клеточном и молекулярном уровне дефицит инсулина вызывает определённые изменения, в частности наблюдается угнетение экспрессии NR2B, но не NR2A субъединицы НМДА-рецепторов, ослабление вызываемого Са/кальмодулин-зависимой протеинкиназой II (СаКМ II) и тирозинкиназами фосфорилирование NR2A/B субъединиц НМДА рецепторов, нарушение ассоциации НМДА-рецепторов с СаКМ II и снижение амплитуды НМДА-компонента ВПСП пирамидных нейронов CA1 гиппокампа. Кроме этого выявлены изменения свойств глутаматергических синапсов в гиппокампе [68].

Выяснение причин эмоциональных и когнитивных нарушений при инсулинзависимой форме сахарного диабета затрудняется тем обстоятельством, что в случае данного заболевания, с одной стороны, снижается уровень активации мембранных инсулиновых рецепторов и подавляются процессы трансдукции, в частности тирозинкиназного фосфорилирования субстратов. С другой стороны, наблюдаемая в условиях сахарного диабета гипергликемия может вызвать гликозилирование белков и липидов, повышение образование реактивных форм кислорода и окисление структурных единиц, участвующих в образовании молекулярных субстратов. Понижение уровня инсулина в плазме крови и тканях при сахарном диабете вызывает сопряжённое нарушение функций ряда эндокринных желез. Так у мышей со стрептозотоцининдуцированным сахарным диабетом отмечалось усиление секреции глюкокортикоидов, морфологические и функциональные изменения в мозге, сходные с теми, которые возникают при стрессе [141].

3.1. Нарушения релейных свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов гиппокампа и медиальной префронтальной коры при моделировании сахарного диабета

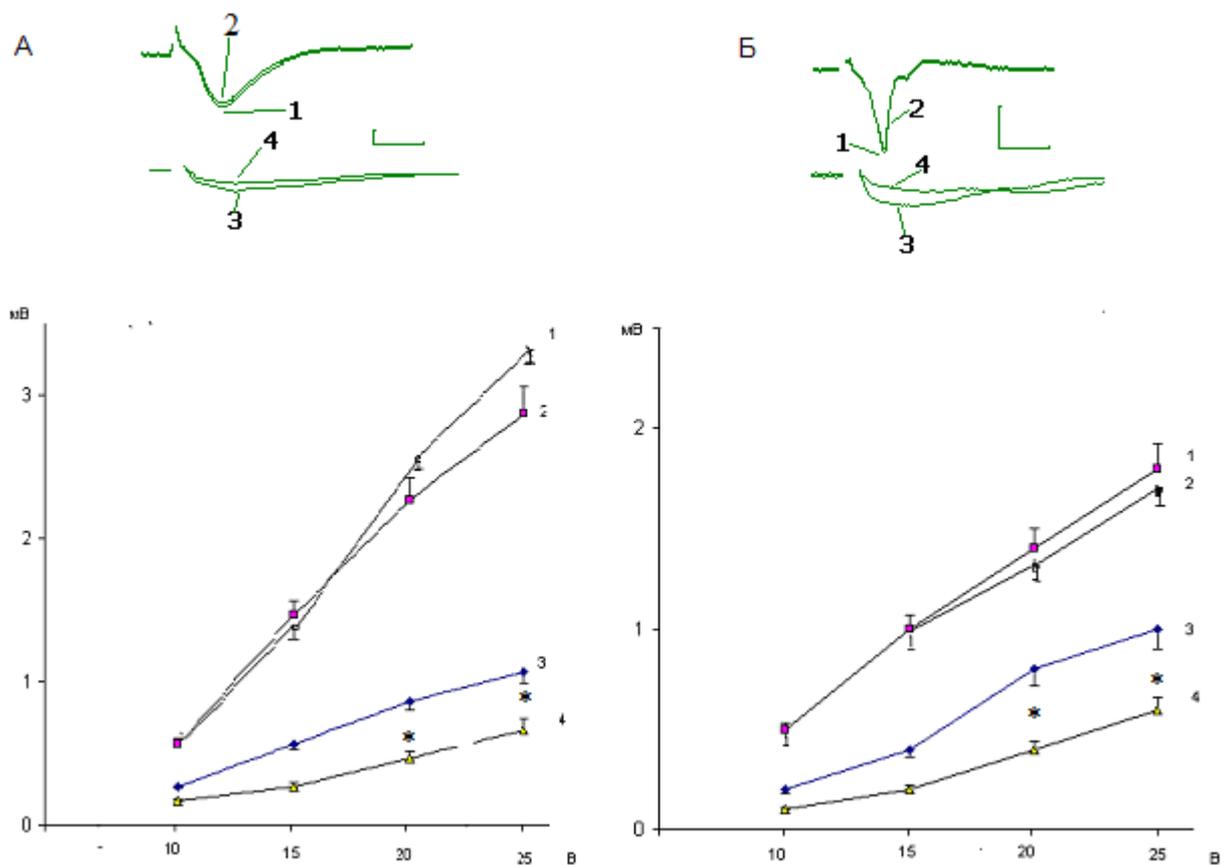


Рис. 7. Изменения глутаматергической синаптической передачи в пирамидных нейронах области CA1 гиппокампа (А) и V слоя медиальной префронтальной коры (Б) при ЭСД.

Сверху осциллограммы максимальных постсинаптических ответов. Калибровка: 1 мВ, 10 мс.

Ниже – кривые зависимости амплитуд популяционных ВПСП пирамидных нейронов (1) и их НМДА-компонентов (3) от интенсивности пресинаптической стимуляции в контроле и на фоне ЭСД (2) и (4) соответственно.

По вертикальной оси – амплитуда пВПСП пирамидных нейронов в мВ; по горизонтальной оси интенсивность пресинаптической стимуляции в В (сопротивление стимулирующего электрода по постоянному току 200 кОм)

В условиях экспериментального сахарного диабета (ЭСД), индуцированного, как описано в разделе 2, исследовали влияние патологии на релейные свойства глутаматергических синапсов нейронов дорсального гиппокампа и медиальной префронтальной коры. Базальный уровень глутаматергической синаптической передачи в дорсальном гиппокампе и медиальной префронтальной коре, судя по амплитуде популяционных

возбуждающих постсинаптических потенциалов (пВПСП) пирамидных нейронов, существенных изменений не претерпевал (рис.7; 1,3), хотя при интенсивной стимуляции синаптических входов выявляется недостоверная тенденция к снижению амплитуд пВПСП. В данном случае амплитуды НМДА- компонентов ВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры достоверно уменьшались (рис. 7; 2,4).

Таблица 1. Изменения фармакологической чувствительности НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов мПФК при моделировании сахарного диабета.

Условия эксперимента	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП кетамином (30 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП ZnSO ₄ (10 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП галоперидолом (5 мкМ)
Контроль	51,3 ± 5,5 %	35,4 ± 3,7 %	31,3 ± 3,8 %
ЭСД	76,7 ± 6,3 %*	34,4 ± 2,6 %	57,8 ± 4,2 %*

* - величины статистически достоверно отличаются от контроля при $P < 0,05$.

Снижение функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов сопровождалось изменениями в их субъединичной композиции. Как следует из табл.1, в условиях моделирования сахарного диабета выявлено повышение блокирующей активности неселективного (кетамин) и селективного в отношении глутаматных НМДА-рецепторов субъединичной композиции NR1/NR2B (галоперидол), в то время как блокирующая активность селективного в отношении NR1/NR2A глутаматных НМДА-рецепторов не изменялась. Эти данные указывают на снижение плотности содержащих NR1/NR2B субъединиц глутаматных НМДА-рецепторов в постсинаптических мембранах проекционных нейронов мПФК и совпадают с результатами других исследователей [89].

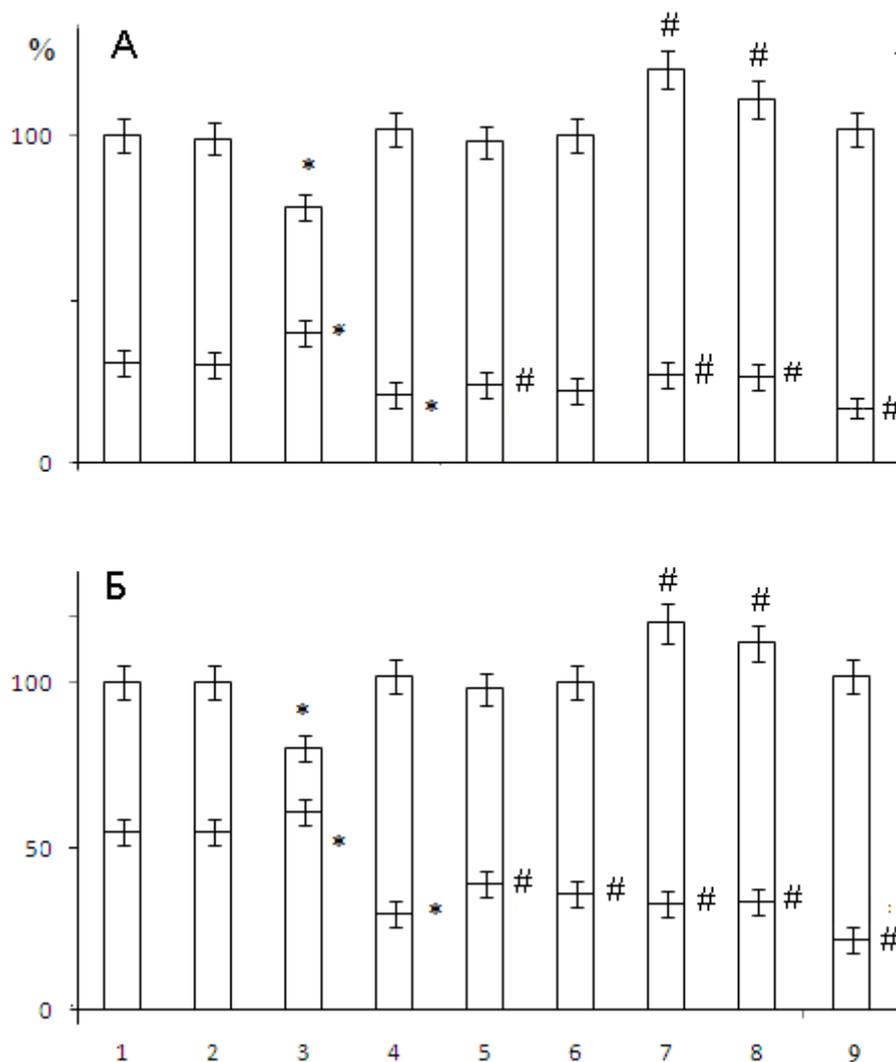


Рис. 8. Изменения амплитуд популяционных ВПСР и их НМДА-компонентов пирамидных нейронов гиппокампа (А) и коры (Б) при разных экспериментальных условиях.

В каждом столбце верхняя и средняя границы соответствуют максимальным амплитудам ВПСР и их НМДА-компонентов.

1 - контроль; 2 – воздействие 30 мМ/л глюкозы; 3 – воздействие 0,1 ЕД/мл инсулина; 4 – на 4-й неделе развития ЭСД; 5 – то же после двухдневного введения протафана в дозе 2 ЕД/сутки; 6 – то же после введения 20 мг/кг верапамила; 7 и 8 – то же после двухнедельного введения имипрамина и флуоксетина в дозах 20 мг/кг соответственно; то же после введения 2 мг/кг диазепама – 9.

По вертикальной шкале – изменения амплитуды ответов в %.

* - изменения достоверны относительно интактной группы – столбец 1 (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

- изменения достоверны относительно контрольной группы животных с экспериментальным сахарным диабетом – столбец 2 (t- критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

В срезах мозга крыс с ЭСД после двухдневного введения инсулина не наблюдалось значительных изменений глутаматергической синаптической передачи, судя по амплитудам пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры и НМДА-компонентов указанных потенциалов (рис. 8, А, Б, столбцы 4,5). В то же время, воздействие на срезы мозга интактных крыс инсулина в концентрации 0,1 ЕД/мл в течение 2-х часов вызывало снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры, но при этом отмечалось увеличение амплитуд НМДА-компонентов данных потенциалов (рис.8, А, Б столбец 3). Снижение амплитуды пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры в срезах мозга интактных крыс после воздействия инсулина является одной из форм хемоиндуцированной длительной депрессии синаптической передачи. Нейрохимические механизмы индукции и экспрессии данной формы синаптической пластичности отличаются от таковых, вызываемой низкочастотной электрической стимуляцией [102].

При воздействии на срезы мозга интактных крыс глюкозы в концентрации 30 мМ в течение 6-ти часов изменений глутаматергической синаптической передачи и амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры не наблюдалось (рис. 8, А, Б, столбцы 1, 2).

Хроническое введение антидепрессантов неселективного ингибитора обратного захвата норадреналина и серотонина имипрамина и селективного ингибитора обратного захвата серотонина в течение 2-х недель в дозе 20 мг/кг (на протяжении третьей и четвертой недель после введения аллоксана) вызывало незначительное увеличение базальной глутаматергической синаптической передачи. Действительно, амплитуда пВПСП пирамидных нейронов дорсального

гиппокампа и коры возрастала на 10 – 20 % (рис. 8, А и Б, столбцы 7 и 8). В то же время, НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов были меньшими по амплитуде по сравнению с таковыми у контрольных животных (рис. 8, А и Б, столбцы 7 и 8). Следовательно, хроническое введение антидепрессантов не устраняло нарушений функциональной активности нейрональных глутаматных НМДА-рецепторов. В эксперименте на срезах мозга крыс, у которых моделировали сахарный диабет, воздействие верапамила в концентрации 20 мкМ в течение часа не вызывало существенных изменений амплитуд пВПСП, но незначительно увеличивало амплитуду НМДА-компонентов постсинаптических ответов пирамидных нейронов только в срезах коры (рис. 8, А, Б, столбцы 4 и 6). Введение опытными крысам транквилизатора диазепам в дозе 2 мг/кг за час до приготовления срезов не оказывало влияния на амплитуды пВПСП пирамидных нейронов коры и гиппокампа, однако вызывало достоверное угнетение амплитуд НМДА-компонентов фокальных потенциалов (рис. 8, А, Б, столбец 9).

3.2. Нарушения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов гиппокампа и медиальной префронтальной коры при моделировании сахарного диабета

Для характеристики пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов гиппокампа и медиальной префронтальной коры мы использовали явления длительной потенциации и длительной депрессии (ДП и ДД соответственно) синаптической передачи. Четырехкратная высокочастотная (100 Гц, длительность 1с) тетаническая стимуляция II слоя коры у интактных крыс вызывала прирост амплитуды пВПСП пирамидных нейронов V слоя, который через 30 мин после стимуляции составил $144,6 \pm 6,3$ % по отношению к контролю. В условиях моделирования сахарного диабета прирост амплитуды пВПСП равнялся $109,3 \pm 5,5$ % (рис. 9).

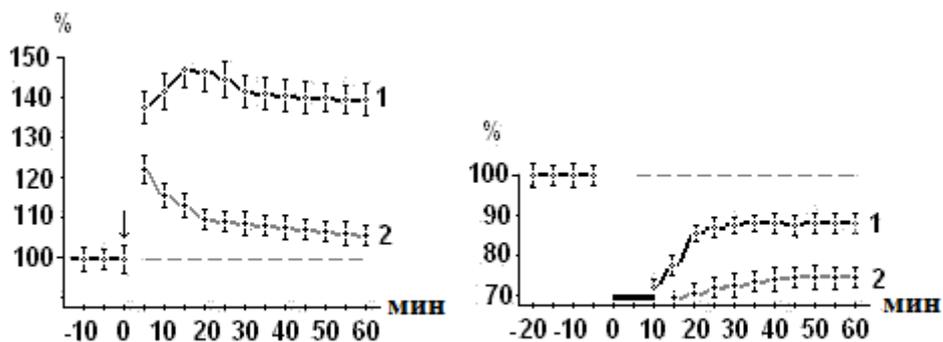


Рис. 9. Динамика развития длительной потенциации (слева) и длительной депрессии (справа) синаптической передачи в синапсах пирамидных нейронов V слоя медиальной префронтальной коры у контрольных крыс (1) и у крыс с развившимся сахарным диабетом (2).

По вертикальной шкале – изменения амплитуд пВПСП в %; по горизонтальной – время в мин.

Низкочастотная (5 Гц, длительность 10 мин) тетаническая стимуляция вызывала снижение амплитуды пВПСП до $85,6 \pm 4,5$ % через 30 мин после прекращения стимуляции в срезах мозга контрольных крыс. У крыс с экспериментальным сахарным диабетом в тот же временной промежуток амплитуда пВПСП равнялась $72,4 \pm 3,1$ % (рис. 9). Таким образом, при моделировании данной патологии имеет место угнетение развития ДП, но усиление развития ДД синаптической передачи.

Одной из вероятных причин нарушений развития ДП и ДД в синапсах пирамидных нейронов гиппокампа и коры при ЭСД может быть ослабление функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов (рис. 7), поскольку обе формы синаптической пластичности являются НМДА-зависимыми [1,16]. Этому предположению противоречит тот факт, что наблюдается угнетение развития ДП, но усиление ДД синаптической передачи.

В различных экспериментальных условиях мы наблюдали изменения ДП и ДД (рис.10).

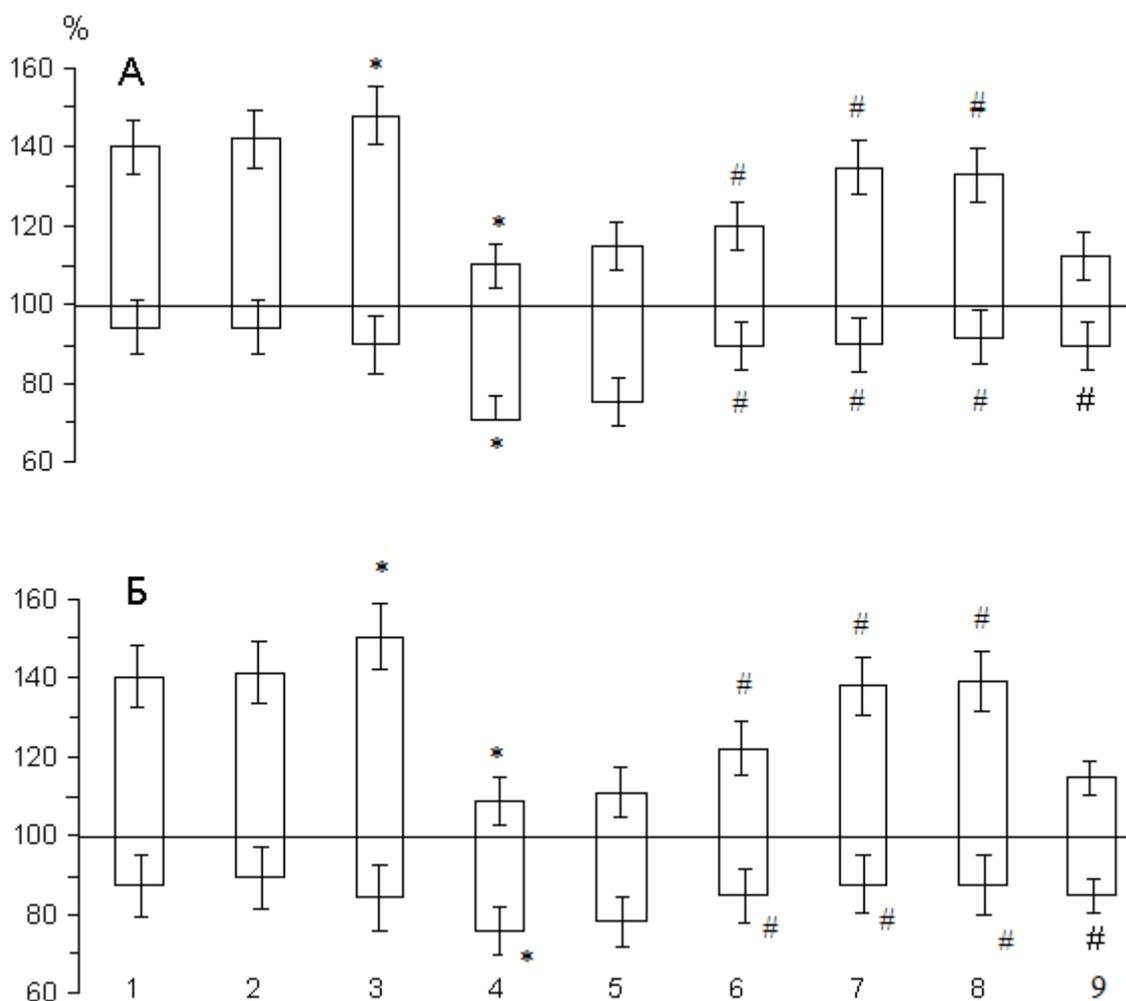


Рис. 10. Длительная потенция и длительная депрессия синаптической передачи в пирамидных нейронах гиппокампа (А) и коры (Б) при разных экспериментальных условиях.

Каждый направленный вверх и вниз столбец отражают изменения амплитуды популяционных ВПСП на 30-й мин после прекращения тетанической стимуляции синаптических входов, т. е. длительную потенцию и длительную депрессию синаптической передачи соответственно.

1 - контроль; 2 – воздействие 30 мМ/л глюкозы; 3 – воздействие 0,1 ЕД/мл инсулина; 4 – на 4-й неделе развития ЭСД; 5 – то же после двухдневного введения протафана в дозе 2 ЕД/сутки; 6 – то же после введения 20 мг/кг верапамила; 7 и 8 – то же после двухнедельного введения имипрамина и флуоксетина в дозах 20 мг/кг соответственно; то же после введения 2 мг/кг диазепама – 9.

По вертикальной шкале – изменения амплитуды ответов в %.

* - изменения достоверны относительно интактной группы – столбец 1 (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

- изменения достоверны относительно контрольной группы животных с экспериментальным сахарным диабетом – столбец 4 (t- критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

Воздействие на срезы мозга интактных крыс инсулина в концентрации 0,1 ЕД/мл в течение 2-х часов вызывало усиление развития как ДП, так и ДД синаптической передачи (рис.10, А, Б, столбец 1 и 3). Воздействие на срезы мозга интактных крыс глюкозы в концентрации 30 мМ в течение 6 часов не влияло на развитие ДП и ДД синаптической передачи (рис. 10, А, Б, столбец 1 и 2)

В срезах мозга крыс с ЭСД после двухдневного введения *in vivo* препарата инсулина длительного действия не выявлено существенных изменений экспрессии ДП и ДД синаптической передачи в пирамидных нейронах гиппокампа и коры (рис. 10, А, Б, столбец 4 и 5).

Двухнедельное введение крысам антидепрессантов – имипрамина и флуоксетина в условиях моделирования сахарного диабета восстанавливало нарушенные пластические свойства глутаматергических синапсов пирамидных нейронов коры и гиппокампа практически до исходного уровня (рис. 10, А и Б, столбцы 7 и 8). Введение крысам с ЭСД блокатора потенциалозависимых кальциевых каналов верапамила в дозе 20 мг/кг за час до приготовления срезов мозга восстанавливало экспрессию ДД практически до исходного уровня и только ослабляло угнетение развития ДП синаптической передачи – контроль $144,6 \pm 6,3$ %, ЭСД $109,3 \pm 5,5$ %, после введения верапамила $124,6 \pm 4,4$ % (рис. 10, А и Б, столбец 6). Бензодиазепиновый транквилизатор диазепам в дозе 2 мг/кг не оказывал влияния на нарушение экспрессии ДП синаптической передачи при моделировании сахарного диабета, но частично устранял дефект развития ДД синаптической передачи (рис. 10, А и Б, столбец 9).

Таким образом, средство патогенетической терапии – инсулин длительного действия при введении крысам в течение двух дней уменьшал гипергликемию от

27,3 ± 4,6 мМ до 6,5 ± 2,3 мМ, но не влиял на нарушения пластических свойств глутаматергических синапсов гиппокампа и коры. Антидепрессанты – флуоксетин и имипрамин – уменьшали дефицит функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов и нормализовали синаптическую пластичность пирамидных нейронов коры и гиппокампа, нарушенную в условиях ЭСД. Такое же, но количественно менее интенсивное действие на нарушенную синаптическую пластичность оказывал верапамил. Диазепам оптимизировал только ДД синаптической передачи.

Поскольку синаптическая пластичность участвует в формировании поведенческих актов [16], можно думать, что если используемые лекарственные вещества могут ослаблять нарушения синаптической пластичности, вызываемые экспериментальной патологией, то по крайней мере они могут в определенной степени коррегировать нарушения поведенческих реакций. Справедливо ли это предположение покажут данные следующего раздела.

3.3. Нарушения поведенческих реакций крыс при моделировании сахарного диабета

Через четыре недели после введения крысам аллоксана на фоне сформировавшегося экспериментального сахарного диабета выявлено увеличение уровня депрессивности животных, о чем свидетельствует увеличение времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания до 247,3 ± 16,7 с против 166,4 ± 6,3 с в контроле (рис. 11, столбцы 1 и 2).

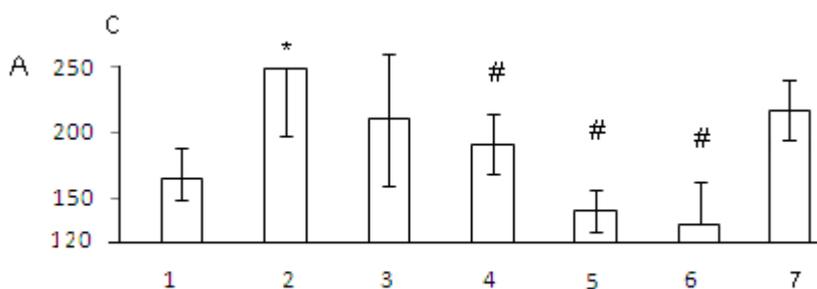


Рис. 11. Влияния исследуемых лекарственных веществ на время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания при моделировании сахарного диабета.

Столбец 1 – интактный контроль, 2 – на фоне сахарного диабета, 3 то - же после двухдневного введения протофана 2 ЕД/сутки, 4 - то же после воздействия 20 мг/кг верапамила, 5 и 6 - то же после двухнедельного введения 20 мг/кг имипрамина и флуоксетина соответственно, 7 – то же после введения 2 мг/кг диазепама.

По вертикальной шкале время иммобилизации в с.

* - изменения достоверны относительно интактной группы – столбец 1 (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

- изменения достоверны относительно контрольной группы животных с экспериментальным сахарным диабетом – столбец 2 (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

Двухнедельное введение антидепрессантов имипрамина и флуоксетина препятствовало увеличению уровня депрессивности, которое наблюдали при моделировании сахарного диабета в контроле, судя по уменьшению времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания (рис. 11, 2 и 5, 6). После введения верапамила на фоне ЭСД отмечено умеренное снижение времени иммобилизации по абсолютной величине, меньшее по сравнению с эффектами антидепрессантов (рис. 11, столбцы 2 и 4). Диазепам в дозе 2 мг/кг не оказывал влияния на возросший уровень депрессивности, наблюдаемый при моделировании сахарного диабета (рис. 11, столбцы 2 и 7).

В условиях моделирования сахарного диабета увеличению депрессивности сопутствовало возрастание уровня тревожности крыс, о чем свидетельствует существенное снижения продолжительности пребывания животных в открытых

рукавах приподнятого крестообразного лабиринта до $44,7 \pm 6,2$ с против $102,6 \pm 8,4$ с в контроле (рис. 12, столбцы 1 и 2). Существенно, что при многих формах депрессии наблюдается увеличение уровней тревожности [39]. Двухдневное введение инсулина длительного действия в дозе 2 ЕД/сутки/кг крысам, у которых моделировали сахарный диабет, не оказывало влияния на время пребывания животных в открытых рукавах крестообразного лабиринта (рис. 12, столбцы 2 и 3).

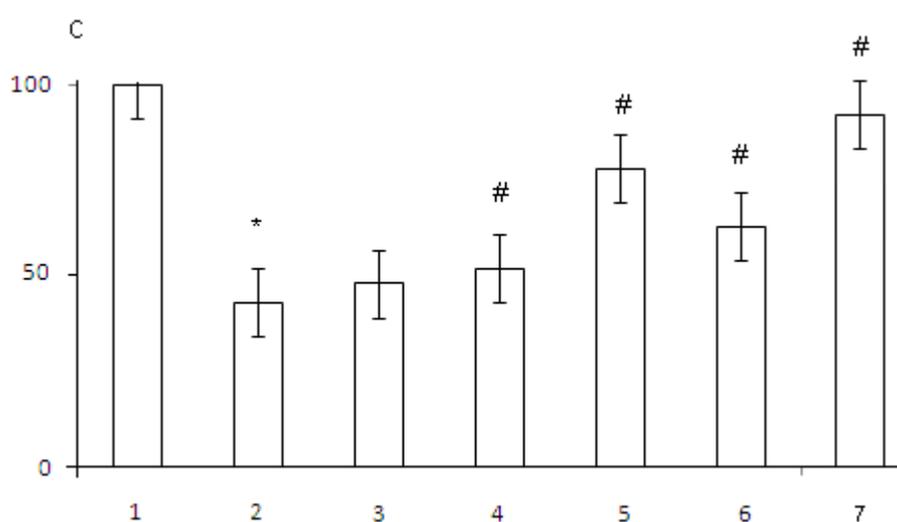


Рис. 12. Влияния исследуемых лекарственных веществ на время пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта при моделировании сахарного диабета.

По вертикальной шкале время пребывания крыс в открытых рукавах лабиринта в с. Остальные обозначения как на рис. 11.

Наиболее выраженное противотревожное действие оказывал бензодиазепиновый транквилизатор диазепам, вводимый в дозе 2 мг/кг, который восстанавливал время пребывания крыс в открытых рукавах крестообразного лабиринта на фоне ЭСД практически до уровня интактного контроля (рис.12, столбцы 2 и 7). Антидепрессанты по способности ослаблять уменьшение времени пребывания крыс в открытых рукавах крестообразного при моделировании сахарного диабета уступали диазепаму. Интересно, что противотревожное

действие импрамина достоверно больше по сравнению с действием флуоксетина (рис. 12, столбцы 2, 5 и 6). После введения верапмила в дозе 20 мг/кг крысам с ЭСД наблюдали умеренное (на уровне достоверности, $P = 0,05$) увеличение времени пребывания животных в открытых рукавах лабиринта (рис. 12, столбцы 2 и 4).

Воспроизведение навыков обучения и их нарушения мы оценивали по изменениям латентного времени условнорефлекторной реакции активного избегания (УРАИ).

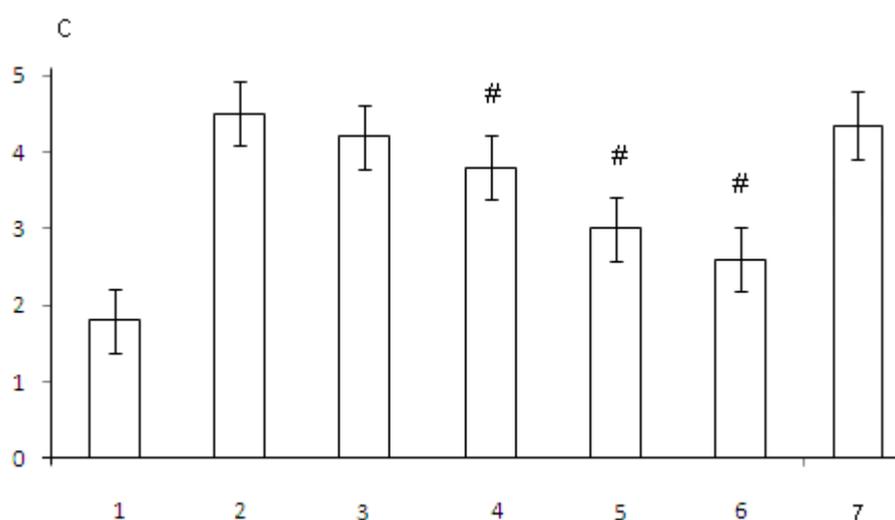


Рис. 13. Влияния исследуемых лекарственных веществ на латентное время условнорефлекторной реакции активного избегания при моделировании сахарного диабета.

По вертикальной шкале изменения латентного времени реакции активного избегания в секундах. Остальные обозначения как на рис. 11.

В условиях моделирования сахарного диабета выявлено нарушение воспроизведения навыков обучения, на что указывает увеличение латентного времени УРАИ до $4,85 \pm 0,4$ с против $1,75 \pm 0,3$ с в контроле (рис. 13, столбцы 1 и 2). Двухдневное введение протофана в дозе 2 ЕД/сутки/кг крысам с ЭСД не устраняло нарушение воспроизведения навыков обучения (рис. 13, столбцы 2 и 3). Аналогичный результат получен при введении крысам с ЭСД диазепама в дозе 2

мг/кг (рис. 13, столбцы 2 и 7). Антидепрессанты достоверно уменьшали величину латентного времени УРАИ, существенно возросшую при моделировании сахарного диабета, причем флуоксетин проявлял более выраженную активность по сравнению с имипрамином (рис 13, столбцы 2 и 5,6). Верапамил, вводимый в дозе 20 мг/кг, также уменьшал латентное время УРАИ на фоне ЭСД, однако его активность была значительно меньше по сравнению с антидепрессантами (рис. 13, столбцы 2 и 4).

3.4. Оценка степени корреляционных связей влияний лекарственных веществ на синаптические процессы и поведенческие реакции животных при моделировании сахарного диабета

Проведенные исследования показали, что в условиях развития сахарного диабета у крыс наблюдается нарушения синаптических процессов: уменьшение амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов дорсального гиппокампа и медиальной префронтальной коры, угнетение экспрессии ДП, но облегчение развития ДД синаптической передачи. С другой стороны, в этих же условиях выявлено увеличение времени иммобилизации животных в тесте вынужденного плавания, который характеризует уровень депрессивности; уменьшение времени пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта, характеризующего уровень тревожности, и увеличение латентного времени условнорефлекторной реакции активного избегания, характеризующего способность воспроизводить навыки обучения. Используемые лекарственные вещества оказывали различное влияние на синаптические процессы и поведенческие реакции животных. Это позволяет провести анализ корреляционных связей влияний лекарственных веществ на нейрофизиологические и поведенческие процессы.

Как следует из табл. 2, способность используемых лекарственных веществ уменьшать время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания в условиях моделирования сахарного диабета обнаруживает значимую корреляционную связь с их коррегирующим влиянием на развитие ДП

синаптической передачи в пирамидных нейронах префронтальной коры. Следовательно, можно думать, что повышенный уровень депрессивности крыс обусловлен угнетением экспрессии ДП в синапсах проекционных нейронов медиальной префронтальной коры. Это предположение вписывается в рамки существующих представлений о связи нарушений нейропластичности и синаптической пластичности, как важнейшего ее компонента с развитием депрессивного синдрома [8,25].

Таблица 2. Матрица коэффициентов корреляции рангов влияния исследуемых лекарственных веществ на синаптические процессы и поведение животных при моделировании сахарного диабета.

	ДП синаптической передачи в мПФК	ДД синаптической передачи в мПФК	Амплитуда пВПСП пирамидных нейронов мПФК	Амплитуда НМДА-компонентов пВПСП
Время иммобилизации	0,95 *	0,62	0,60	0,51
Время пребывания в открытых рукавах	0,05	0,95 *	- 0,21	- 0,71
Латентное время УРАИ	0,95 *	0,10	0,61	0,62

n = 5; * - коэффициент корреляции рангов статистически значим при P = 0,05.

Что касается ДД синаптической передачи, то связь ее с уровнем депрессивности нечетка и весьма размыта. В тоже время, коррегирующее влияние исследуемых лекарственных веществ на развитие ДД в синапсах проекционных нейронов префронтальной коры обнаруживает значимую корреляционную связь с их способностью увеличивать время пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта (табл. 2). Это указывает на то, что ослабление глутаматергической синаптической передачи (ДД) в проекционных нейронах префронтальной коры сопровождается возрастанием уровня

тревожности, наиболее вероятно вследствие растормаживания базолатерального ядра миндалины [107].

Наконец, способность используемых лекарственных веществ нормализовать латентное время УРАИ при моделировании сахарного диабета выявляет значимую корреляционную связь с вызываемой ими коррекцией нарушения экспрессии ДП синаптической передачи в проекционных нейронах префронтальной коры (табл. 2). Вероятно, можно думать, что формирование и воспроизведение следов памяти обеспечивается нейропластичностью, важнейшим элементом которой является ДП синаптической передачи [14,16].

Таблица 3. Качественная оценка коррегирующей активности исследуемых лекарственных веществ в отношении нарушений поведения при моделировании сахарного диабета

Исследуемые вещества	Снижение уровня депрессивности	Снижение уровня тревожности	Нормализация воспроизведения УРАИ
Инсулин	0	0	0
Имипрамин	++	++	++
Флуоксетин	++	+	++
Верапамил	+	+	+
Диазепам	0	++	0

++ - максимальная активность; + - умеренная активность; 0 – отсутствие влияния.

Сравнение кооррегирующего влияния исследуемых лекарственных веществ на нарушения поведения в условиях моделирования сахарного диабета дает следующие результаты. Антидепрессанты обнаруживают выраженную активность в плане коррекции повышенного уровня депрессивности и нормализации воспроизведения навыка УРАИ (табл. 3). Наиболее выраженную активность в плане снижения повышенного уровня тревожности на фоне экспериментального сахарного диабета обнаруживает диазепам, несколько меньшая активность

присуща имипрамину и умеренную противотревожную активность демонстрирует флуоксетин (табл. 3). Диазепам не оказывал влияния на повышенный уровень депрессивности, а в отдельных опытах вызывал даже дальнейшее его увеличения, и на нарушенное воспроизведение УРАИ (табл. 3). Верапамил умеренно коррегировал всю триаду нарушений поведения при моделировании сахарного диабета (табл. 3). Введение инсулина на фоне сформировавшегося сахарного диабета не оказывало влияния на нарушения поведения (табл. 3).

ГЛАВА 4.

НАРУШЕНИЯ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КОРЕ И ПОВЕДЕНИЯ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ; ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ КОРРЕКЦИИ ЭТИХ НАРУШЕНИЙ

Влияние воспаления на лимбические структуры мозга многокомпонентно. В первую очередь это касается образующихся в очаге воспаления и проникающих в мозг циклических эндоперекисей арахидоновой кислоты, которые через посредство метаботропных простагландиновых и лейкотриеновых рецепторов оказывают выраженное модулирующее влияние на проекционные нейроны и локальные интернейроны корковых и подкорковых структур. Далее, в процессе воспаления иммунокомпетентные клетки продуцируют цитокины, такие как интерлейкины-1, 2 и 6, фактор некроза опухолей альфа [163]. Через посредство цитокиновых рецепторов, располагающихся в мембранах нейронов и глиальных клеток, вышеупомянутые полипептиды также модулируют функциональную активность нейронов лимбических структур мозга. Наконец, одним из компонентов воспалительного процесса является боль, особенно хроническая, которая существенным образом изменяет деятельность основных лимбических структур, в первую очередь префронтальной коры [171].

Асептическое воспаление моделировали как изложено в разделе 2. После введения уксусной кислоты и декстрана наблюдали появление воспалительного инфильтрата, лейкоцитоз, активацию макрофагов и повышение уровня в крови С-реактивного белка. На седьмые сутки развития хронического воспаления начинали исследования изменений поведения, релейных и пластических функций глутаматергических синапсов коры и влияние на эти показатели веществ-анализаторов.

4.1 Нарушения релейных свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов медиальной префронтальной коры при моделировании хронического воспаления и влияние на них исследуемых веществ

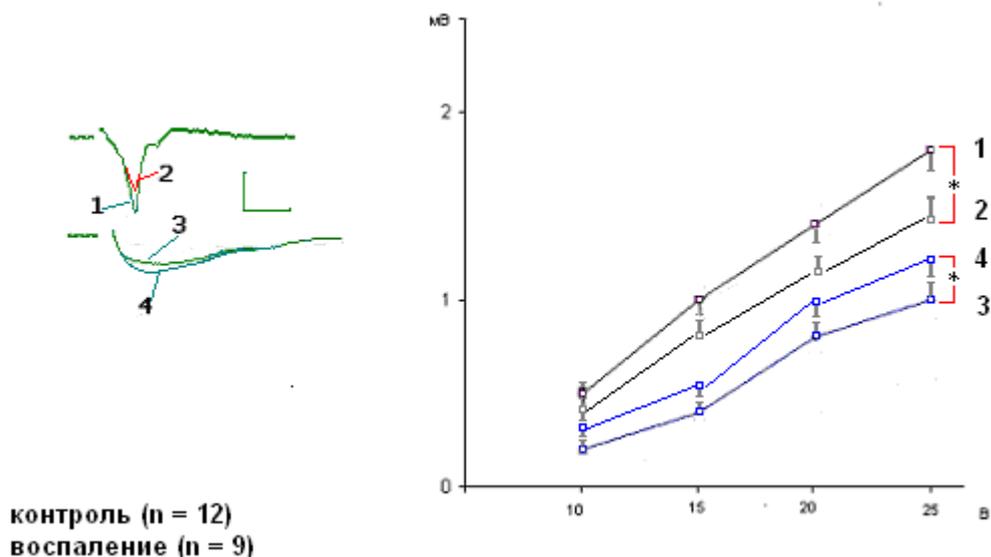


Рис. 14. Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов V слоя медиальной префронтальной коры и увеличение их НМДА-компонента в условиях хронического воспаления.

Слева – сверху образцы максимальных пВПСП пирамидных нейронов, внизу их НМДА-компоненты в контрольных условиях 1 и 3, и на фоне воспаления 2 и 4 соответственно.

Справа – графики зависимости средних амплитуд пВПСП и их НМДА-компонентов от интенсивности пресинаптической стимуляции в контроле 1 и 3, и на фоне воспаления 2 и 4 соответственно.

По вертикальной шкале амплитуда пВПСП в мВ; по горизонтальной шкале интенсивность пресинаптической стимуляции в В.

Калибровка: 1 мВ, 10 мс. Сопротивление раздражающего электрода 200 кОм.

* - (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

В исследованиях *in vitro* на срезах мПФК выявлено характерное для воспалительной реакции организма снижение базальной глутаматергической передачи, в синапсах, образованных дендритными шипиками пирамидных нейронов V слоя и аксонами нейронов II слоя данной структуры. Как следует из

рис. 14, на фоне воспаления наблюдается снижение наклона кривой, отражающей зависимость амплитуд пВПСП от интенсивности пресинаптической стимуляции – $0,64 \pm 0,04$ против $0,86 \pm 0,06$ в контроле ($P = 0,02$). Ослабление базальной синаптической передачи в гиппокампе наблюдали и другие исследователи [98]. Генерация глутаматергических ВПСП нейронов коры и гиппокампа опосредована активацией ионофорных глутаматных AMPA- и НМДА-рецепторов [168]. Поэтому вполне допустимо, что ослабление базальной синаптической передачи обусловлено снижением активности глутаматных AMPA- и/или НМДА-рецепторов.

Максимальное значение амплитуды пВПСП пирамидных нейронов префронтальной коры на фоне хронического воспаления уменьшалось от $1,82 \pm 0,05$ мВ в контроле до $1,41 \pm 0,03$ мВ ($P = 0,002$). Используемые лекарственные вещества по-разному влияли на сниженную при моделировании хронического воспаления амплитуду пВПСП. Селективный ингибитор ЦОГ₂ нимесулид достоверно увеличивал сниженную на фоне хронического воспаления амплитуду пВПСП до $1,52 \pm 0,03$ мВ ($P = 0,03$), а неселективный ингибитор циклооксигеназ парацетамол подобным действием не обладал. На фоне хронического введения антидепрессантов амплитуда пВПСП пирамидных нейронов возрастала до $1,94 \pm 0,07$ и $1,89 \pm 0,06$ мВ при использовании имипрамина и флуоксетина соответственно ($P = 0,007$). После введения блокатора кальциевых каналов верапамила возрастание сниженной на фоне хронического воспаления амплитуды пВПСП было на грани достоверности $1,59 \pm 0,03$ ($P = 0,048$). Введение кетамина и диазепама животным с хроническим воспалением на сниженную амплитуду пВПСП пирамидных нейронов влияния не оказывало.

В соответствии с рис. 14 амплитуда фармакологически изолированного НМДА-компонента пВПСП пирамидных нейронов V слоя коры возрастала. Наклон кривой зависимости амплитуд НМДА-компонента пВПСП от интенсивности пресинаптической стимуляции в условиях хронического

воспаления был больше такового в контроле – $0,51 \pm 0,03$ против $0,36 \pm 0,03$ ($P = 0,04$). Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов с одновременным увеличением их НМДА-компонентов в условиях хронического воспаления может быть следствием либо шунтирования катионными каналами глутаматных НМДА-рецепторов токов, опосредуемых активацией глутаматных AMPA-рецепторов [98], либо гомеостатической пластичностью [25]. Но, почему возрастает амплитуда НМДА-компонентов ВПСП, не ясно.

На фоне хронического воспаления НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов коры претерпевали не только количественные, но и качественные изменения – менялась их фармакологическая чувствительность. Действительно, как следует из табл. 4, неселективный блокатор НМДА-рецепторов различной субъединичной композиции кетамин в условиях хронического воспаления слабее угнетал НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов мПФК по сравнению с контролем. Подобное наблюдали при использовании блокатора относительно селективного в отношении НМДА-рецепторов субъединичной композиции NR1/NR2A цинка сульфата (табл. 4). В то же время, селективный в отношении содержащих NR2B субъединицу НМДА-рецепторов галоперидол практически одинаково угнетал НМДА-компоненты пВПСП как в контроле, так и в условиях моделируемой патологии.

Агонисты негативно связанных с аденилатциклазой альфа2-адрено- и серотониновых (5-ГТ) 1A рецепторов клофелин и особенно буспирон соответственно слабее угнетали НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов мПФК на фоне хронического воспаления (табл. 4).

Таблица 4. Изменения фармакологической чувствительности НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов мПФК в условиях хронического воспаления

Условия эксперимента	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП кетамином (30 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП ZnSO ₄ (10 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП галоперидолом (5 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП клофелином (20 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП буспироном (20 мкМ)
Контроль	51,3 ± 5,5 %	35,4 ± 3,7 %	31,3 ± 3,8 %	62,3 ± 7,7 %	56,1 ± 7,2 %
Хроническое воспаление	36,7 ± 4,3 %*	24,4 ± 2,6 %*	27,8 ± 4,2 %	48,4 ± 7,1 %*	35,3 ± 5,6 %*

* - величины статистически достоверно отличаются от контроля (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Увеличение амплитуд НМДА-компонентов пВПСП может быть следствием, по крайней мере, двух причин. Во-первых, это может обусловлено усилением экзоцитоза и увеличением количества глутаматных НМДА-рецепторов в постсинаптических уплотнениях. Во-вторых, наблюдаемый эффект может быть связан с изменением хемосенситивности НМДА-рецепторов вследствие фосфорилирования внутриклеточных доменов субъединиц НМДА-рецепторов серин/треониновыми и/или тирозиновыми протеинкиназами. Экзоцитоз постсинаптических НМДА-рецепторов среди прочих факторов регулируется моноаминами. Действительно, активируя альфа-адрено- и 5-ГТ1А рецепторы норадреналин и серотонин, препятствуют экзоцитозу и уменьшают в постсинаптических уплотнениях количество содержащих NR2B субъединицу НМДА-рецепторов [104, 117].

Вещества анализаторы различно влияли на амплитуду НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов V слоя медиальной префронтальной коры при хроническом воспалении (рис. 15).

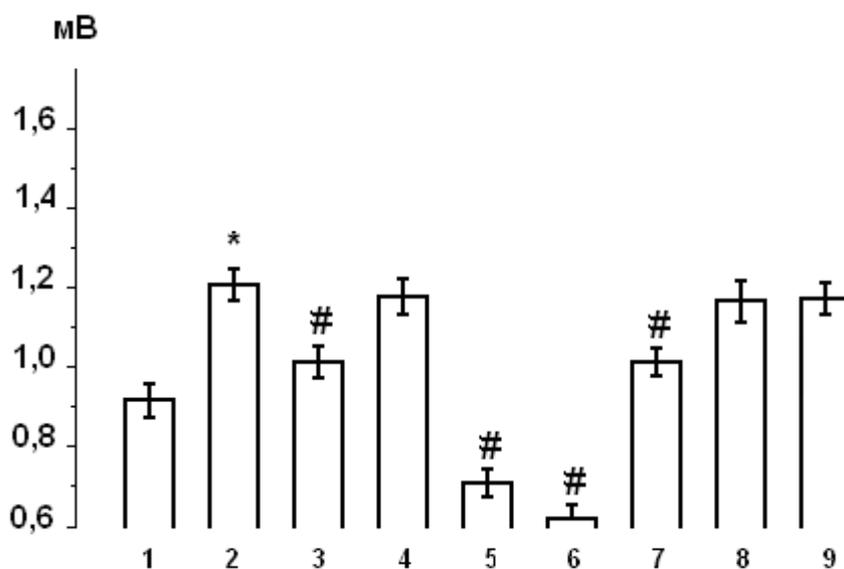


Рис. 15. Увеличение амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов V слоя медиальной префронтальной коры при хроническом воспалении и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Столбец 1 – средняя максимальной амплитуды НМДА-компонента пВПСП в контроле, 2 – то же при хроническом воспалении; средняя максимальной амплитуды НМДА-компонента при хроническом воспалении на фоне действия: 3 – 5 мг/кг нимесулида, 4 – 10 мг/кг парацетамола, 5 – 20 мг/кг имипрамина, 6 – 20 мг/кг флуоксетина, 7 – 30 мг/кг кетамина, 8 – 20 мг/кг верапамила и 9 – 2 мг/кг диазепама.

По вертикальной шкале амплитуда синаптических потенциалов в мВ.

* - изменения достоверны относительно интактной группы – столбец 1 (t- критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

- изменения достоверны относительно контрольной группы животных с экспериментальным сахарным диабетом – столбец 2 (t- критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

Наблюдаемое при хроническом воспалении увеличение максимальной амплитуды НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов коры – $1,21 \pm 0,04$ мВ против $0,92 \pm 0,04$ мВ в контроле ($P = 0,01$) – частично обращалось нимесулидом – $1,07 \pm 0,03$ мВ, но не парацетамолом (рис. 15, столбец 3). Антидепрессанты имипрамин и флуоксетин в условиях хронического воспаления уменьшали амплитуду НМДА-компонентов пВПСП даже ниже контрольного уровня – $0,71 \pm 0,03$ и $0,62 \pm 0,03$ мВ соответственно против $0,92 \pm 0,04$ ($P = 0,03$ и $0,02$). Кетамин снижал (рис. 15, столбец 7) увеличенные при воспалении амплитуды НМДА-компонентов пВПСП исследуемых нейронов $1,02 \pm 0,04$ против $1,21 \pm 0,04$ мВ. Блокатор потенциалозависимых Ca^{2+} каналов L-типа верапамил и анксиолитик диазепам на исследуемый показатель влияния не оказывали (рис. 15, столбцы 8 и 9).

В условиях хронического воспаления имеет место нарушение активности моноаминергических систем мозга. Мы исследовали эту проблему на срезах гиппокампа в связи с тем, что на пирамидных нейронах области СА1 гиппокампа легко воспроизводятся антидромные потенциалы действия, генерация которых нарушается на фоне гиперполяризации при активации адрено-и серотониновых рецепторов, которые через G α белки управляют калиевой проводимостью мембран нейронов [62].

Таблица 5. Влияние 5-ГТ, норадреналина и буспирона на амплитуду популяционных спайков пирамидных нейронов области СА1 гиппокампа в контроле и на фоне хронического воспаления.

Условия эксперимента	Угнетение амплитуд вызываемое 30 мкМ 5-ГТ	Угнетение амплитуд вызываемое 30 мкМ норадреналина	Угнетение амплитуд вызываемое 20 мкМ буспирона
Контроль	$67,4 \pm 6,2$ %	$41,4 \pm 4,2$ %	$39,4 \pm 3,3$ %
Хроническое воспаление	$36,7 \pm 4,1$ %*	$43,1 \pm 4,1$ %	$51,5 \pm 4,7$ %*

* - величины статистически достоверно отличаются от контроля (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Как видно из табл. 5, серотонин, 1A серотониномиметик буспирон и адреномиметик норадреналин снижают амплитуду ПС пирамидных нейронов области СА1 гиппокампа в контроле, но в условиях воспаления ослабляется угнетающее действие 5-ГТ, но не норадреналина, а эффекты буспирона даже возрастают. Следовательно, при воспалении изменяется и постсинаптическая рецепция, и метаболический оборот серотонина. Буспирон, который в отличие от 5-ГТ не подвергается обратному захвату, сильнее угнетает возбудимость пирамидных нейронов гиппокампа, действуя постсинаптически. В тоже время, ослабление эффектов 5-ГТ обусловлено не постсинаптическим, но пресинаптическим влиянием воспаления. В исследованиях на культивируемых нейронах и синапсосамах установлено, что провоспалительные цитокины стимулируют обратный захват серотонина в везикулы 5-ГТ-ергических нервов [30]. В связи с этим, можно думать, что снижение эффектов 5-ГТ является следствием понижения концентрации моноамина во внеклеточных пространствах мозга вблизи хемочувствительных мембран нейронов из-за усиления его обратного захвата. В гиппокампе в отличие от мПФК это очевидно, вызывает ап-регуляцию постсинаптических 5-ГТ 1A рецепторов и может быть причиной усиления эффектов буспирона (табл. 5). В условиях воспаления активность норадренергической модулирующей системы мозга существенных изменений не претерпевала (табл. 5).

4.2. Нарушения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов медиальной префронтальной коры при моделировании хронического воспаления и влияние на них исследуемых веществ

Изменение функциональной активности нейрональных НМДА рецепторов может быть причиной нарушения НМДА-зависимых форм синаптической пластичности в мПФК. В самом деле, судя по данным, представленным на рис.

16, на фоне хронического воспаления наблюдали угнетение экспрессии регистрируемой на 30-й мин после тетанической стимуляции ДП синаптической передачи ($113,2 \pm 4,4$ % против $142,5 \pm 7,1$ % в контроле, $P < 0,05$, $n = 5$), так и ДД синаптической передачи ($95,6 \pm 5,0$ % против $83,1 \pm 4,1$ % в контроле, $P < 0,05$, $n = 5$) рис.16, столбцы 1 и 2).

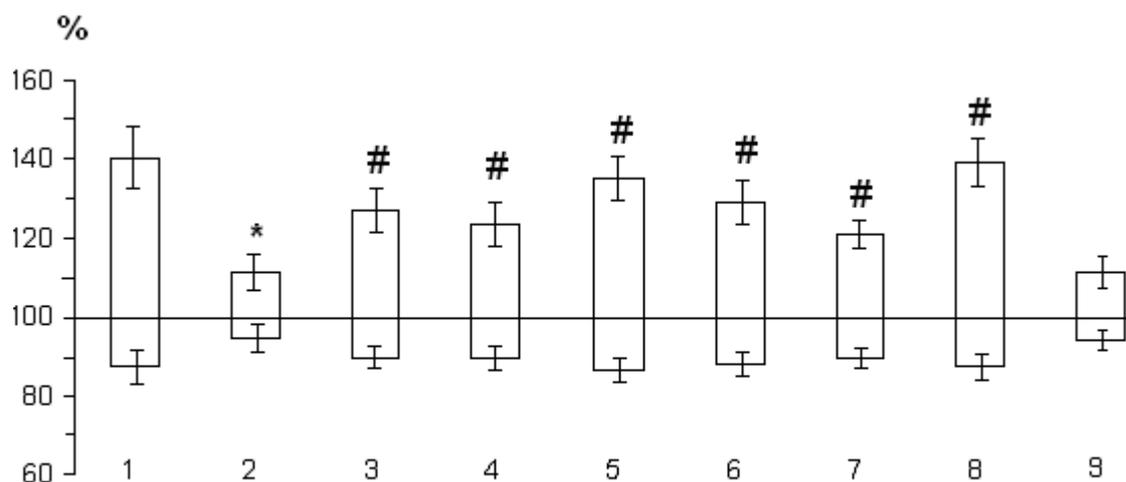


Рис. 16. Угнетение экспрессии длительной потенциации и депрессии синаптической передачи в медиальной префронтальной коре при хроническом воспалении и влияние на эти эффекты веществ анализаторов.

Отклонения вверх соответствуют ДП, вниз – ДД синаптической передачи. Столбец 1 – средняя максимальной амплитуды НМДА-компонента пВПСП в контроле, 2 – то же при хроническом воспалении; средняя максимальной амплитуды НМДА-компонента при хроническом воспалении на фоне действия: 3 – 5 мг/кг нимесулида, 4 – 10 мг/кг парацетамола, 5 – 20 мг/кг имипрамина, 6 – 20 мг/кг флуоксетина, 7 – 30 мг/кг кетамина, 8 – 20 мг/кг верапамила и 9 – 2 мг/кг диазепама.

По вертикальной шкале – изменения амплитуд пВПСП пирамидных нейронов в %.

* - изменения достоверны относительно интактной группы – столбец 1 (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

- изменения достоверны относительно контрольной группы животных с экспериментальным сахарным диабетом – столбец 2 (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

Ингибиторы ЦОГ нимесулид и парацетамол частично, а антидепрессанты имипрамин и флуоксетин практически полностью обращали вызываемые хроническим воспалением нарушения основных форм синаптической пластичности пирамидных нейронов мПФК (рис. 16, столбцы 3,4; 5 и 6). Кетамин обладал более низкой активностью в отношении восстановления синаптической пластичности по сравнению с ингибиторами ЦОГ и антидепрессантами (рис. 16, столбец 7). Верапамил достаточно эффективно восстанавливал нарушенные воспалением как ДП, так и ДД синаптической передачи, а диазепам на нарушения синаптической пластичности влияния не оказывал (рис. 16, столбец 9). В то же время, необходимо отметить, что ДП синаптической передачи на фоне хронического воспаления развивается при увеличении частоты пресинаптической стимуляции. Действительно, если аксонные терминалы нейронов II слоя стимулировать более высокой частотой - 200 Гц, то на 30-й мин после стимуляции амплитуда пВПСП пирамидных нейронов составила $135,4 \pm 6,7$ % (не иллюстрировано). Это позволяет думать, что на фоне хронического воспаления имеет место повышение порога индукции ДП синаптической передачи, несмотря на повышение функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов.

4.3. Нарушения поведенческих реакций крыс при моделировании хронического воспаления

В условиях моделирование хронического асептического воспаления у крыс наблюдали изменение поведения. Отмечено возрастание уровня депрессивности животных, которое проявлялось увеличением времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания (рис.17, столбец 1 и 2). Действительно, время иммобилизации возрастало до $158,3 \pm 6,3$ с против $125,3 \pm 6,3$ с в контроле ($P = 0,0012$).

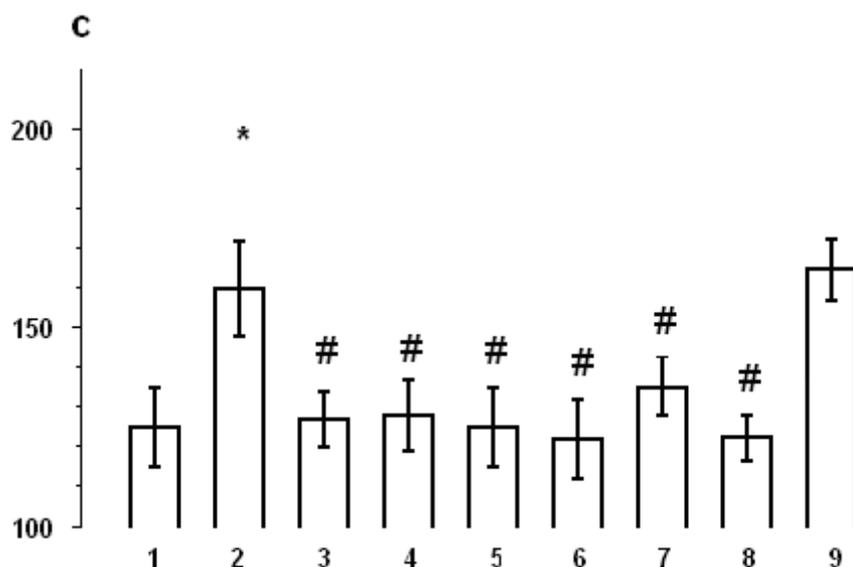


Рис. 17. Увеличение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания в условиях хронического воспаления и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Столбец 1 – время иммобилизации в контроле, 2 – то же при хроническом воспалении; время иммобилизации при хроническом воспалении на фоне действия: 3 – 5 мг/кг нимесулида, 4 – 10 мг/кг парацетамола, 5 – 20 мг/кг имипрамина, 6 – 20 мг/кг флуоксетина, 7 – 30 мг/кг кетамина, 8 – 20 мг/кг верапамила и 9 – 2 мг/кг диазепама.

По вертикальной шкале время в с.

* - изменения достоверны относительно интактной группы – столбец 1 (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

- изменения достоверны относительно контрольной группы животных с экспериментальным сахарным диабетом – столбец 2 (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

Селективный ингибитор ЦОГ-2 нимесулид, вводимый внутрь в дозе 5 мг/кг в течение 7 дней ослаблял увеличение времени иммобилизации крыс в условиях хронического воспаления (рис. 17, столбец 3) – $128,5 \pm 3,4$ с против $158,3 \pm 6,3$ с ($P = 0,0002$). До $127,2 \pm 3,8$ с уменьшал время иммобилизации крыс в условиях хронического воспаления неселективный ингибитор циклооксигеназы парацетамол (рис. 17, столбец 4).

Антидепрессанты – имипрамин вводимый внутрибрюшинно и флуоксетин, вводимый внутрь в дозе 20 мг/кг обращали вызываемое воспалением увеличение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до $120,0 \pm 4,5$ с и $119,4 \pm 5,0$ с соответственно (рис. 17, столбцы 5 и 6). Неконкурентный блокатор глутаматных НМДА-рецепторов кетамин, вводимый внутрибрюшинно 2 раза в сутки в дозе 30 мг/кг в течение 5 дней обладал подобным действием, но его активность была меньшей по сравнению с антидепрессантами – время иммобилизации уменьшалось до $138,9 \pm 3,2$ с (рис. 17, столбец 7). Транквилизатор диазепам после внутрибрюшинного введения в дозе 2 мг/кг не влиял на время иммобилизации, а блокатор потенциалозависимых кальциевых каналов L-типа верапамил, вводимый внутробрюшинно в дозе 20 мг/кг существенно обращал вызываемое воспалением увеличение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания – $122,1 \pm 7,2$ с против $158,3 \pm 6,3$ с ($P = 0,00013$) (рис. 17, столбец 8).

В условиях хронического воспаления наблюдали увеличение тревожности животных. Об этом свидетельствует (рис. 18) уменьшение времени пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) от $136,3 \pm 25,2$ с в контроле до $50,6 \pm 3,7$ с ($P = 0,0001$). Подобным образом уменьшалось количество переходов из закрытых в открытые рукава ПКЛ (не иллюстрировано) от $5,3 \pm 0,6$ в контроле до $2,9 \pm 0,5$ ($P = 0,0001$). Хроническое воспаление нарушает процессы формирования и воспроизведения навыков обучения. Исследуемые вещества, кроме диазепама, верапамила и в меньшей степени имипрамина и кетамина, не вызывали достоверных изменений времени пребывания крыс в открытых рукавах ПКЛ (рис. 18).

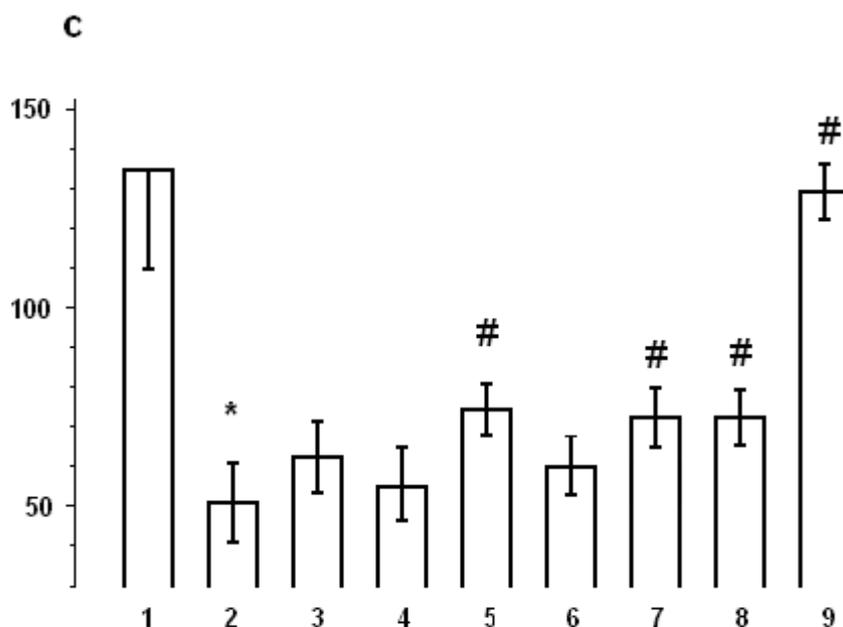


Рис. 18. Уменьшение времени пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ при хроническом воспалении и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Обозначения как на рис.17. По вертикальной шкале время пребывания крыс в открытых рукавах ПКЛ в с.

Диазепам практически полностью от $50,6 \pm 3,7$ с до $122,1 \pm 5,4$ с ($P = 0,0001$), а имипрамин, верапамил и кетамин частично обращали сниженное хроническим воспалением время пребывания крыс в открытых рукавах ПКЛ от $50,6 \pm 3,7$ с до $73,7 \pm 4,1$, $70,2 \pm 3,9$ и $72,3 \pm 4,0$ ($P = 0,001$) соответственно (рис. 18). В тоже время, все исследуемые вещества, кроме кетамина, статистически достоверно увеличивали сниженное хроническим воспалением количество переходов в рукавах ПКЛ (не иллюстрировано).

Как следует из рис. 19, в условиях моделирования хронического воспаления увеличивается латентное время воспроизведения условнорефлекторной реакции активного избегания от $1,75 \pm 0,25$ с в контроле до $5,00 \pm 0,27$ с ($P = 0,0003$) и возрастает количество сочетаний условного и безусловного раздражителей, необходимое для выработки устойчивой УРАИ с минимальным латентным периодом, от $7,6 \pm 0,4$ в контроле до $10,3 \pm 0,4$ в условиях хронического воспаления ($P = 0,047$).

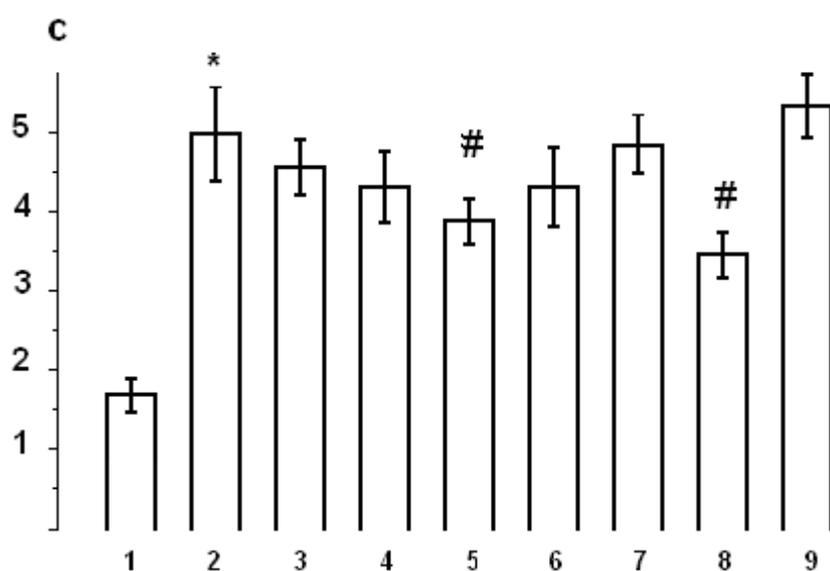


Рис. 19. Увеличение латентного времени воспроизведения навыка УРАИ при хроническом воспалении и влияние на этот эффект веществ-анализаторов. По вертикальной шкале латентное время УРАИ в с. Обозначения как на рис. 17.

Все исследуемые вещества-анализаторы не вызывали статистически значимых изменений величины латентного периода УРАИ на фоне хронического воспаления (рис. 19), кроме имипрамина и верапамила. Последние снижали латентный период УРАИ от $5,00 \pm 0,27$ с до $4,13 \pm 0,2$ и $3,95 \pm 0,2$ с ($P = 0,045$) соответственно (рис.19, столбцы 5 и 8). Все исследуемые вещества на фоне воспаления обращали увеличение количества сочетаний раздражителей, необходимого для выработки устойчивой УРАИ ~ на 2.

4.4. Оценка корреляционных связей влияний лекарственных веществ на синаптические процессы и поведенческие реакции животных при моделировании хронического воспаления

Таблица 6. Матрица коэффициентов корреляции рангов влияния исследуемых лекарственных веществ на синаптические процессы и поведение животных при моделировании хронического воспаления.

	ДП синаптической передачи в мПФК	ДД синаптической передачи в мПФК	Амплитуда пВПСП пирамидных нейронов мПФК	Амплитуда НМДА-компонентов пВПСП
Время иммобилизации	0,88 *	0,79 *	0,41	0,55
Время пребывания в открытых рукавах	- 0,26	- 0,19	- 0,14	- 0,45
Латентное время УРАИ	0,89 *	0,96 *	0,51	0,26

$n = 7$; * - коэффициент корреляции рангов статистически значим при $P = 0,05$.

Как следует из табл. 6, способность используемых лекарственных веществ уменьшать время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания в условиях моделирования хронического воспаления обнаруживает значимую корреляционную связь с их коррегирующим влиянием на развитие ДП и в меньшей степени ДД синаптической передачи в пирамидных нейронах префронтальной коры. Т. е., как и при моделировании сахарного диабета в условиях хронического воспаления в основе повышения уровня депрессивности животных лежит нарушение пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов медиальной префронтальной коры. Поэтому представляется, что лекарственные вещества, которые устраняют угнетение

развития ДП и ДД синаптической передачи в префронтальной коре, будут обладать антидепрессанто-подобным действием.

Ситуация с влиянием исследуемых лекарственных веществ на синаптические процессы и возросший уровень тревожности при моделировании хронического воспаления неопределенная. Влияние лекарственных веществ ни на один из исследуемых синаптических параметров не обнаруживает статистически значимой корреляционной связи с их влиянием на уровень тревожности крыс при моделировании хронического воспаления (табл. 6). Наиболее высокое значение коэффициента корреляции рангов выявляется во влиянии лекарственных веществ на НМДА- компоненты пВПСП пирамидных нейронов префронтальной коры и уровень тревожности животных (табл. 6). С одной стороны, нарушение синаптической пластичности проекционных нейронов префронтальной коры ослабляет ее возможности поддерживать оптимальный уровень функциональной активности лимбических структур. С другой стороны, усиление реаптейка 5-ГТ в условиях хронического воспаления усиливает активность нейронов базолатерального ядра миндалины, что ведет к возрастанию тревожности [106]. Однако, это плохо согласуется с фактом, что повышающий уровень 5-ГТ в мозге флуоксетин не влияет на время пребывания крыс в открытых рукавах крестообразного лабиринта, т. е. не уменьшает повышенный уровень тревожности при моделировании хронического воспаления (рис. 18).

Как и на фоне экспериментального диабета, при моделировании хронического воспаления выявлена статистически значимая корреляционная связь во влиянии лекарственных веществ на латентный период воспроизведения навыка УРАИ и на синаптическую пластичность проекционных нейронов префронтальной коры (табл. 6). Существенную роль в коррегирующем влиянии исследуемых лекарственных веществ на воспроизведение навыков обучения играет их способность восстанавливать не только ДП, но и ДД синаптической

передачи в проекционных нейронах префронтальной коры, ослабленные при моделировании хронического воспаления (табл. 6).

Таблица 7. Качественная оценка коррегирующей активности исследуемых лекарственных веществ в отношении нарушений поведения при моделировании хронического воспаления.

Исследуемые вещества	Снижение уровня депрессивности	Снижение уровня тревожности	Нормализация воспроизведения УРАИ
Нимесулид	+	0	0
Парацетамол	+	0	0
Имипрамин	++	+	+
Флуоксетин	++	0	0
Кетамин	+	+	0
Верапамил	++	+	+
Диазепам	0	++	0

++ - максимальная активность; + - умеренная активность; 0 – отсутствие влияния.

Как следует из табл.7, антидепрессанты наиболее интенсивно восстанавливают повышенный уровень депрессивности при моделировании на крысах хронического воспаления. В несколько меньшей степени верапамил снижает время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания (табл. 7). Но разница заключается в том, что указанный эффект антидепрессантов развивается через две недели их систематического введения, а эффект верапамила проявляется через час. В умеренной степени повышенное время иммобилизации в

тесте вынужденного плавания при моделировании хронического воспаления снижают ингибиторы ЦОГ – нимесулид и парацетамол (табл. 7). Поскольку оба эти препарата обладают способностью ослаблять воспалительную боль, может быть вызываемое этими лекарствами снижение уровня депрессивности у крыс обусловлено их обезболивающим действием, поскольку боль вызывает и/или усиливает депрессию [89]. Неселективный неконкурентный блокатор глутаматных НМДА-рецепторов кетамин при хроническом введении демонстрировал умеренную (на уровне ингибиторов ЦОГ) способность уменьшать возросший уровень депрессивности крыс при моделировании хронического воспаления (табл. 7). Бензодиазепиновый транквилизатор диазепам в отношении на повышенный уровень депрессивности влияния не оказывал (табл. 7).

Влияние исследуемых лекарственных веществ на вторую составляющую триады нарушений поведения при моделировании хронического воспаления – возросший уровень тревожности не столь выражено, как их влияние на повышенную депрессивность. Судя по табл. 7, только диазепам обладает выраженным противотревожным действием. Из антидепрессантов лишь имипрамин умеренно увеличивал время пребывания крыс в открытых рукавах крестообразного лабиринта при моделировании данной патологии, а флуоксетин такой активностью не обладал (табл. 7). Не исключено, что это не связано с влиянием имипрамина на транспортеры норадреналина и 5-ГТ. Приблизительно в такой же степени как имипрамин, увеличивали время пребывания крыс в открытых рукавах кетамин и верапамил (табл. 7). Наконец, на третью составляющую триады нарушений поведения на фоне хронического воспаления – замедление воспроизведения навыков обучения (следов памяти) только имипрамин и верапамил оказывали умеренное коррегирующее действие (табл. 7).

ГЛАВА 5.

НАРУШЕНИЯ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КОРЕ И ПОВЕДЕНИЯ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДОВ; ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ КОРРЕКЦИИ ЭТИХ НАРУШЕНИЙ

В клинической практике сегодня используются преимущественно синтетические глюкокортикостероиды (ГК), обладающие мощной противовоспалительной, иммуносупрессивной и антиаллергической активностью при слабых или даже нулевых минералокортикоидных эффектах, в связи с чем они относятся к наиболее часто применяемым препаратам в различных областях медицины [94]. На Европейском симпозиуме по глюкокортикоидной терапии был принят Консенсус по номенклатуре доз и режимов применения ГК. Согласно обсуждаемому Консенсусу по номенклатуре доз и режимов применения ГК суточные дозировки ГК 7,5 мг и ниже обозначаются как низкие; суточные дозировки от 7,5 мг до 30 мг — как средние; суточные дозировки $> 30 \text{ мг} \leq 100 \text{ мг}$ — как высокие; суточные дозировки $> 100 \text{ мг}$ — как очень высокие и пульс-терапия $\geq 250 \text{ мг/сутки}$ в/в. Все дозировки ГК даны в преднизолоновом эквиваленте. Наиболее часто используют средние и высокие суточные дозировки. Используемая в наших исследованиях доза дексаметазона 0,5 мг/кг соответствует средним суточным дозам.

5.1. Нарушения релейных свойств синапсов префронтальной коры на фоне хронического введения дексаметазона; влияния на них исследуемых веществ

Хроническое введение Дмз вызывает изменения функционального состояния нейронов лимбических структур мозга, которые участвуют в формировании поведенческих реакций животных. Исследуя ключевую лимбическую структуру – мПФК, мы обнаружили изменения релейных свойств глутаматергических синапсов.

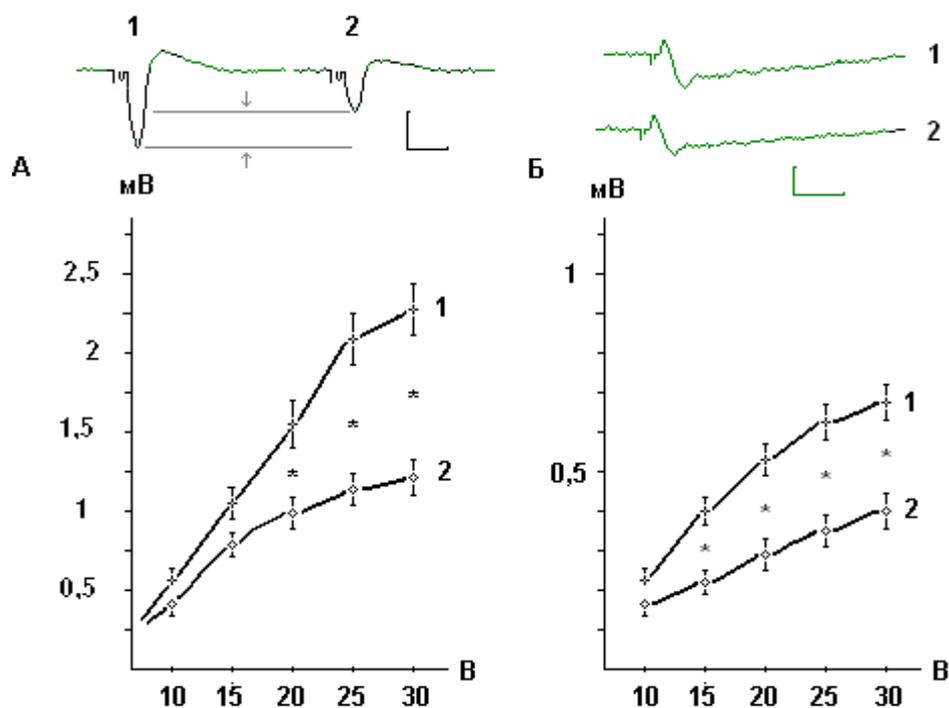


Рис. 20. Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов V слоя медиальной префронтальной коры (А) и их НМДА-компонента (Б) в условиях хронического введения Дмз

Сверху образцы максимальных пВПСП пирамидных нейронов (А) и их НМДА-компоненты (Б), усредненных по 10 реализациям, в контрольных условиях (1) и на фоне хронического введения Дмз (2) соответственно.

Внизу графики зависимости средних амплитуд пВПСП и их НМДА-компонентов (в мВ) от интенсивности пресинаптической стимуляции (в В) в контроле (1) и на фоне хронического введения Дмз (2) соответственно.

Калибровка: 1 мВ (А), 0,5 мВ (Б); 10 мс.

* - величины статистически достоверно отличаются от контроля при $P < 0,05$.

Как следует из рис.20, на фоне хронического введения Дмз имеет место снижение глутаматергической передачи в синапсах, образованных афферентами медиодорсального таламуса и дендритами пирамидных нейронов, о чем свидетельствует снижение амплитуды пВПСП. Поскольку в пирамидных нейронах мПФК генерация ВПСП обусловлена активацией как АМРА-, так и

НМДА-рецепторов [114], установлено, что снижение амплитуд пВПСП происходит за счет уменьшения и АМРА-, и НМДА-компонентов фокальных потенциалов. Действительно, это подтверждается тем, что амплитуда комплексного пВПСП пирамидных нейронов мПФК уменьшалась от $2,25 \pm 0,21$ мВ до $1,10 \pm 0,15$ мВ, а амплитуда НМДА-компонента пВПСП снижалась от $0,67 \pm 0,10$ мВ до $0,37 \pm 0,07$ мВ (рис.20). Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов не сопровождалось изменением величин парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс – $1,75 \pm 0,36$ против $1,67 \pm 0,29$ в контроле ($P > 0,05$). Это указывает на то, что ослабление синаптической передачи в мПФК имеет постсинаптическую природу и, наиболее вероятно, обусловлено снижением плотности ионофорных глутаматных рецепторов в постсинаптических уплотнениях.

Можно думать, что Дмз через посредство ядерных ГК рецепторов угнетает экспрессию повсеместно распространенных субъединиц глутаматных рецепторов. Это подтверждается тем, что неселективный блокатор НМДА-рецепторов кетамин, как и блокаторы селективные в отношении НМДА-рецепторов, содержащих NR2A и NR2B субъединицы, Zn^{2+} и галоперидол [100] соответственно более интенсивно, но в одинаковой степени по сравнению с контролем угнетали НМДА-компоненты пВПСП (табл. 8). Кроме того, в исследованиях на префронтальной коре крыс установлено, что хроническая активация ГК рецепторов вызывает усиление разрушения Глур1 и NR1 субъединиц ионотропных глутаматных рецепторов, которое опосредовано протеасомными E3 убиквитин лигазами Nedd4-1 и Fbx2 соответственно [107,114].

Таблица 8. Влияние неселективного и селективных в отношении НМДА-рецепторов разной субъединичной композиции блокаторов на амплитуды НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов.

Условия эксперимента	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП кетамином (30 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП ZnSO ₄ (10 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП галоперидолом (5 мкМ)
Контроль	38,2 ± 4,1 %	35,8 ± 4,0 %	33,6 ± 3,7 %
Хроническое введение Дмз	58,3 ± 3,3 %*	56,2 ± 3,7 %*	50,9 ± 4,1 %*

* - величины статистически достоверно отличаются от контроля при $P < 0,05$.

Наблюдаемый в условиях хронического введения Дмз дефицит глутаматергической синаптической передачи в проекционных нейронах мПФК ослаблялся только при хроническом введении имипрамина и флуоксетина. Действительно, амплитуда комплексных пВПСП возрастала до $1,78 \pm 0,17$ мВ и $1,63 \pm 0,18$ мВ соответственно против $1,10 \pm 0,15$ мВ ($P < 0,05$) в условиях моделируемой патологии; в этих условиях амплитуда НМДА-компонентов пВПСП достоверно возрастала до $0,57 \pm 0,09$ мВ и $0,51 \pm 0,08$ мВ соответственно против $0,37 \pm 0,07$ мВ ($P < 0,05$), в условиях хронического введения Дмз. Другие исследуемые лекарственные вещества на ослабленную глутаматергическую синаптическую передачу влияния не оказывали.

5.2. Нарушения пластических свойств синапсов префронтальной коры на фоне хронического введения дексаметазона; влияния на них исследуемых веществ

Хроническое введение Дмз крысам вызывало также нарушения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов мПФК. Действительно, в эти условия наблюдали угнетение экспрессии ДП

синаптической передачи (рис. 21), величина которой составляла $108,3 \pm 5,4$ % против $142,3 \pm 6,9$ % в контроле ($P = 0,004$). С другой стороны, в контрольных условиях, вызываемая низкочастотной стимуляцией ДД синаптической передачи проявлялась снижением амплитуд пВПСП до $85,1 \pm 3,2$ % на 30-й мин после прекращения НЧС синаптических входов. В тоже время, на фоне Дмз наблюдали усиление экспрессии ДД (рис. 21) - $72,3 \pm 5,1$ % против $85,1 \pm 3,2$ % в контроле ($P = 0,05$).

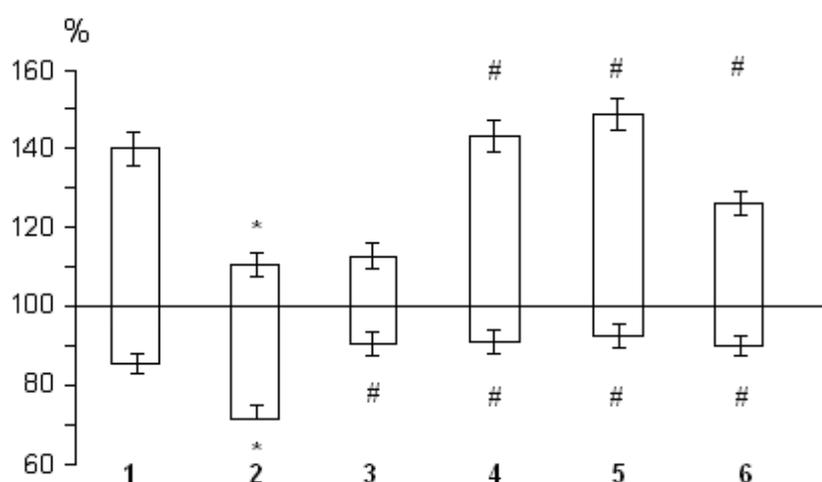


Рис. 21. Угнетение экспрессии длительной потенциации и облегчение развития длительной депрессии синаптической передачи в медиальной префронтальной коре при хроническом введении Дмз и влияние на эти эффекты веществ-анализаторов.

Отклонения вверх соответствуют увеличению амплитуд пВПСП на 30-й мин после прекращения высокочастотной стимуляции, т. е. ДП, а отклонения вниз соответствуют снижению амплитуд пВПСП на 30-й мин после прекращения низкочастотной стимуляции, т. е. ДД синаптической передачи.

Столбец 1 – величины ДП и ДД синаптической передачи в контроле, 2 – то же при хроническом введении Дмз; величины ДП и ДД синаптической передачи при хроническом введении Дмз на фоне действия: 3 – 2 мг/кг диазепама, 4 – 20 мг/кг имипрамина, 5 – 20 мг/кг флуоксетина, 6 – 20 мг/кг верапамила.

По вертикальной шкале – амплитуда постсинаптических потенциалов в %.

* - изменения достоверны относительно интактной группы – столбец 1 (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

- изменения достоверны относительно группы животных, подвергнутых хроническому воздействию Дмз, – столбец 2 (t- критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$), $n = 7$.

В срезах мПФК крыс подвергнутых хроническому воздействию Дмз, взятых через 1 час после введения диазепама, не выявлено влияния на развития ДП $112,3 \pm 5,4$ % против $108,3 \pm 5,4$ % на фоне только Дмз ($P > 0,05$), но обнаружено выраженное угнетающее влияния анксиолитика на экспрессию ДД (рис. 21, столбец 3).

Антидепрессанты флуоксетин и имипрамин облегчали развитие ДП у животных, получавших Дмз: $144,6 \pm 7,2$ % и $150,4 \pm 7,4$ % против $108,3 \pm 5,4$ % на фоне только Дмз ($P < 0,05$). В то же время, оба антидепрессанта существенно ослабляли вызываемое Дмз усиление экспрессии ДД синаптической передачи (рис. 21, столбец 4,5).

Как и антидепрессанты блокатор п/з Ca^{2+} каналов верапамил облегчал развитие ДП синаптической передачи (рис. 21, столбец 6) – $127,4 \pm 4,9$ % против $108 \pm 5,4$ % на фоне действия Дмз ($P = 0,03$), но угнетал усиленную экспрессию ДД – $88,3 \pm 4,7$ % против $72,3 \pm 5,1$ % ($P = 0,04$).

5.3. Нарушения поведенческих реакций крыс в условиях хронического введения дексаметазона; влияние на них исследуемых веществ

Введение крысам с питьевой водой дексаметазона (Дмз) в суточной дозе 0,5 мг/кг, которая соответствует уровню средних доз у человека, в течение 7 дней вызывало повышение уровня тревожности животных. Анксиогенное действие Дмз проявлялось снижением времени пребывания крыс в открытых рукавах ПКЛ (рис. 22) и уменьшением количества выходов в открытые рукава аппарата. Действительно, время пребывания крыс в открытых рукавах снижалось до $83,3 \pm 8,3$ с против $136,3 \pm 21,2$ с в контроле ($P = 0,034$). Помимо этого, в условиях хронического введения Дмз снижалось количество переходов из закрытых в

открытые рукава ПКЛ до $2,4 \pm 0,2$ против $5,3 \pm 0,5$ в контроле; $P = 0,0001$ (не иллюстрировано).

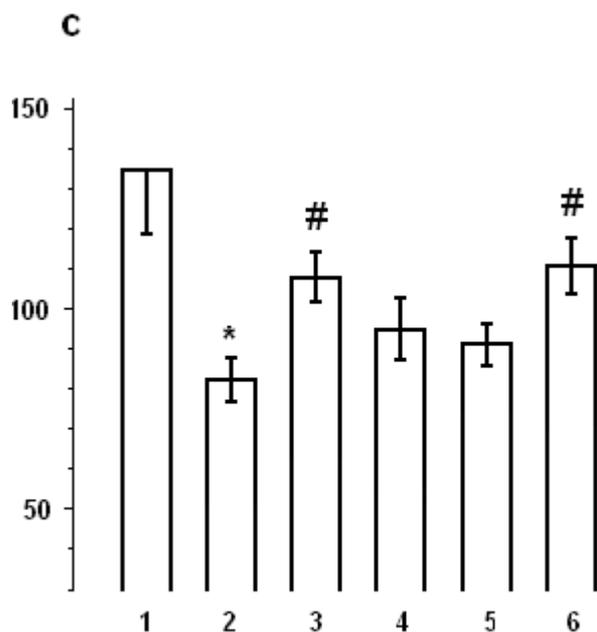


Рис. 22. Увеличение времени пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ в условиях хронического введения Дмз и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Столбец 1 – время пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ в контроле, 2 – то же при хроническом введении Дмз; время пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ при хроническом введении Дмз на фоне действия: 3 – 2 мг/кг диазепама, 4 – 20 мг/кг имипрамина, 5 – 20 мг/кг флуоксетина, 6 – 20 мг/кг верапамила.

По вертикальной шкале время в с.

* - изменения достоверны относительно интактной группы – столбец 1 (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

- изменения достоверны относительно контрольной группы животных с хроническим введением Дмз – столбец 2 (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$). Количество животных в каждой группе (n) – 9.

Введение крысам, получавшим Дмз, диазепама в дозе 2 мг/кг внутривенно, за час до тестирования в аппарате ПКЛ вызывало анксиолитический эффект. Последний проявлялся (рис.22, столбец 1,2)

увеличением времени пребывания крыс в открытых рукавах ПКЛ до $107,9 \pm 8,0$ с против $83,3 \pm 8,3$ с в условиях хронического введения Дмз.

Исследуемые антидепрессанты – флуоксетин и имипрамин, вводимые внутривентриально в дозе 20 мг/кг в течение 14 дней (с 8 по 14-й дни антидепрессанты вводили совместно с Дмз) не оказывали влияния на обусловленный Дмз повышенный уровень тревожности у крыс (рис. 22, столбец 4,5). Время пребывания животных в открытых рукавах равнялось $99,0 \pm 4,5$ с и $96,0 \pm 5,5$ с соответственно, против $83,0 \pm 8,3$ с в контроле ($P > 0,05$).

Блокатор потенциалозависимых кальциевых каналов L-типа верапамил вводимый в дозе 20 мг/кг за час до тестирования подобно диазепаму вызывал снижение уровня тревожности у крыс, повышенного Дмз (рис. 22, столбец 6). Действительно, верапамил достоверно ($P = 0,017$) увеличивал время пребывания животных в открытых рукавах ПКЛ до $109,0 \pm 9,1$ с, а количество переходов из закрытых в открытые рукава до $4,3 \pm 0,37$ ($P = 0,005$).

Хроническое воздействие на организм животных средних доз дексаметазона повышало уровень депрессивности животных. Это проявлялось увеличением времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания (рис. 23, столбец 1,2). Действительно, в этих условиях время иммобилизации возрастало до $211,0 \pm 6,8$ с против $125,0 \pm 6,28$ с в контроле; $P = 0,005$.

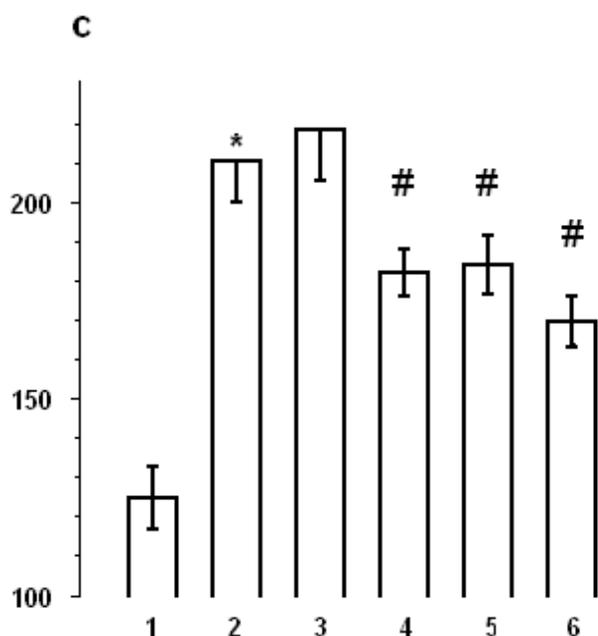


Рис. 23. Увеличение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания в условиях хронического введения Дмз и влияние на этот эффект веществ-анализаторов

Столбец 1 – время пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ в контроле, 2 – то же при хроническом введении Дмз; время пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ при хроническом введении Дмз на фоне действия: 3 – 2 мг/кг диазепама, 4 – 20 мг/кг имипрамина, 5 – 20 мг/кг флуоксетина, 6 – 20 мг/кг верапамила.

* - $P < 0,05$ по отношению к контролю; # - $P < 0,05$ по отношению к столбцу 2 ($n = 9$).

Диазепам не оказывал существенного влияния на уровень депрессивности животных (рис. 23, столбец 3), возросший в условиях хронического воздействия Дмз. Время иммобилизации крыс на фоне диазепама $219,0 \pm 6,5$ с против $211,0 \pm 6,8$ с на фоне хронического введения Дмз ($P > 0,05$).

Антидепрессанты – флуоксетин и имипрамин достоверно ($P < 0,05$) снижали увеличенное Дмз время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до $183,0 \pm 5,7$ с и $185,0 \pm 4,3$ с соответственно, против $211,0 \pm 6,8$ с на фоне Дмз (рис. 23, столбец 4,5).

Антидепрессанто-подобную активность проявлял также блокатор потенциалозависимых кальциевых каналов L-типа верапамил (рис. 23, столбец 6), который снижал время иммобилизации крыс, получавших Дмз, до $170,0 \pm 5,2$ с против $211,0 \pm 6,8$ с ($P = 0,003$).

Хроническое введение крысам Дмз вызывало нарушение не только эмоциональных и мотивационных процессов, но и выработки и воспроизведения навыков обучения. В этих условиях наблюдали увеличение латентного периода УРАИ и количества сочетаний условного и безусловного раздражителей для получения стабильной УРАИ (рис.24).

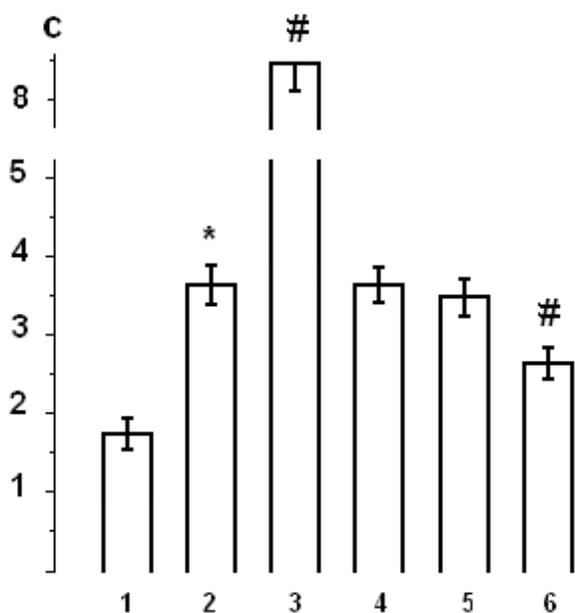


Рис. 24. Увеличение латентного времени воспроизведения навыка УРАИ в условиях хронического введения Дмз и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Столбец 1 – время пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ в контроле, 2 – то же при хроническом введении Дмз; время пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ при хроническом введении Дмз на фоне действия: 3 – 2 мг/кг диазепам, 4 – 20 мг/кг имипрамина, 5 – 20 мг/кг флуоксетина, 6 – 20 мг/кг верапамила.

* - $P < 0,05$ по отношению к контролю; # - $P < 0,05$ по отношению к столбцу 2 ($n = 9$).

Так латентный период возрос до $3,6 \pm 0,32$ с против $1,75 \pm 0,20$ с и для выработки стабильной УРАИ в этих условиях требовалось $7,6 \pm 0,26$ сочетаний условного и безусловного раздражителей против $4,63 \pm 0,25$ в контроле ($P < 0,05$).

Диазепам вызывал дальнейшее увеличение латентного периода УРАИ до $8,5 \pm 2,3$ с (рис. 24, столбец 3), хотя уменьшал количество сочетаний условного и безусловного раздражителей, необходимое для выработки устойчивой УРАИ – $4,5 \pm 0,22$ против $7,6 \pm 0,26$ на фоне только Дмз ($P = 0,0001$).

Флуоксетин и импрамин не влияли на латентный период УРАИ – $3,6 \pm 0,12$ с и $3,7 \pm 0,18$ с соответственно против $3,6 \pm 0,32$ с на фоне Дмз; $P > 0,05$ (рис. 24, столбец 4,5) и на количество сочетаний условного и безусловного раздражителей, необходимое для получения воспроизводимой УРАИ: $6,9 \pm 0,26$ и $6,7 \pm 0,28$ против $7,6 \pm 0,26$; $P > 0,05$.

На фоне хронического введения Дмз верапамил оказывал оптимизирующее влияние на параметры УРАИ (рис. 24, столбец 6), достоверно снижая латентный период до $2,87 \pm 0,15$ с против $3,6 \pm 0,32$ ($P = 0,047$) и количество сочетаний раздражителей до $6,7 \pm 0,21$ против $7,6 \pm 0,26$ ($P = 0,025$).

5.4. Оценка корреляционных связей влияний лекарственных веществ на синаптические процессы и поведенческие реакции животных в условиях хронического введения Дмз

Как следует из табл. 9, способность исследуемых веществ уменьшать время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания в условиях хронического введения Дмз обнаруживает значимую корреляционную связь с их коррегирующим влиянием на развитие ДП и лишь недостоверную тенденцию с таковым на развитие ДД синаптической передачи в пирамидных нейронах префронтальной коры. Следовательно, наблюдаемое в условиях хронического введения Дмз повышение уровня депрессивности животных связано с нарушением пластических свойств (экспрессии ДП синаптической передачи)

глутаматергических синапсов проекционных нейронов медиальной префронтальной коры. В свою очередь, угнетение развития ДП в синапсах проекционных нейронов мПФК при хроническом воздействии Дмз связано с дефицитом влияний, опосредуемых активацией нейрональных глутаматных НМДА-рецепторов, поскольку лекарственные вещества, ослабляющие функциональную недостаточность этих рецепторов уменьшают время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания, о чем свидетельствует значимый коэффициент корреляции рангов (табл. 9).

Таблица 9. Матрица коэффициентов корреляции рангов влияния исследуемых лекарственных веществ на синаптические процессы и поведение животных в условиях хронического введения Дмз.

	ДП синаптической передачи в мПФК	ДД синаптической передачи в мПФК	Амплитуда пВПСП пирамидных нейронов мПФК	Амплитуда НМДА-компонентов пВПСП
Время иммобилизации	0,81 *	0,71	0,14	0,82*
Время пребывания в открытых рукавах	- 0,71	0,97*	0,48	- 0,71
Латентное время УРАИ	0,83 *	0,33	0,24	-0,71

n = 4; * - коэффициент корреляции рангов статистически значим при P = 0,05.

Что касается наблюдаемого возросшего уровня тревожности крыс при хроническом введении Дмз, то эта поведенческая реакция обнаруживает значимую корреляционную связь с нарушением развития ДД в синапсах проекционных нейронов мПФК (табл. 9). Интересно, что аналогичная ситуация имеет место при моделировании сахарного диабета (табл. 2), причем в обоих случаях наблюдали снижение функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов в синапсах пирамидных нейронов префронтальной коры. Создается

впечатление, что лекарственные вещества, которые препятствуют усилению развития ДД синаптической передачи в префронтальной коре либо за счет дальнейшего снижения активности глутаматных НМДА-рецепторов (диазепам), либо за счет выключения кальций-зависимых механизмов развития ДД синаптической передачи (верапамил) способны проявлять противотревожное действие при избытке глюкокортикоидов в крови и мозге.

Наконец, способность используемых лекарственных веществ нормализовать латентное время УРАИ при моделировании хронического воздействия глюкокортикоидов выявляет значимую корреляционную связь с вызываемой ими коррекции нарушения экспрессии ДП синаптической передачи в проекционных нейронах префронтальной коры (табл. 9). Можно думать, что формирование и воспроизведение следов памяти обеспечивается нейропластичностью, важнейшим элементом которой является ДП синаптической передачи [12,14].

Таблица 10. Качественная оценка коррегирующей активности исследуемых лекарственных веществ в отношении нарушений поведения в условиях хронического введения Дмз.

Исследуемые вещества	Снижение уровня депрессивности	Снижение уровня тревожности	Нормализация воспроизведения УРАИ
Имипрамин	++	0	0
Флуоксетин	++	0	0
Верапамил	+	+	+
Диазепам	0	+	>>

++ - максимальная активность; + - умеренная активность; 0 – отсутствие влияния; >>- усиление нарушения.

Сравнение коррегирующего влияния исследуемых лекарственных веществ на нарушения поведения в условиях хронического введения Дмз дает следующие результаты. Антидепрессанты обнаруживают выраженную активность в плане коррекции повышенного уровня депрессивности, но не оказывают влияния на

уровень тревожности и воспроизведения навыка УРАИ (табл. 10). Диазепам снижает повышенный уровень тревожности в условиях хронического введения Дмз, однако диазепам не оказывал влияния на повышенный уровень депрессивности, а также усугублял нарушение воспроизведение УРАИ (табл. 10). Верапамил обладал умеренно коррегирующей активностью на всю триаду нарушений поведения в условиях хронического введения Дмз (табл. 10).

ГЛАВА 6. АНАЛИЗ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К соматическим заболеваниям, при которых наиболее часто наблюдаются психические расстройства, относятся заболевания сердечно-сосудистой системы [34,37,38,47], воспалительные заболевания, язвенная болезнь. Также психические расстройства наблюдаются при эндокринной патологии – при сахарном диабете, особенно второго типа, при болезнях щитовидной железы, болезни Иценко-Кушинга и др. [34,43,67,169]. Механизм возникновения депрессивной симптоматики при соматических и эндокринных заболеваниях связан с непосредственным влиянием нарушений гомеостаза, накоплением продуктов воспаления, гормональных изменений, психоэмоционального стресса, приводящем к обменным, сосудистым, морфологическим расстройствам. В конечном итоге это приводит к развитию энцефалопатии различной интенсивности и распространенности.

В начальном периоде соматического или эндокринного заболевания наблюдается психопатоподобный синдром, для которого характерно снижение психической активности различной степени выраженности (от астении с повышенной утомляемостью и пассивностью до состояния, близкого к апатико-абулическому синдрому).

Предложен специальный термин – нозогения – психическая реакция, которая возникает на определенное заболевание. В определенном смысле это реакция на заболевание. В формировании этих реакций принимают участие психогенная и соматогенная составляющие. Нозогении обычно сопровождают тяжело (объективно и субъективно) протекающие заболевания и синдромы: инфаркт миокарда, инсульты, приступ ИБС, гипертонический криз, сердечные аритмии. В этих ситуациях больной испытывает соматические (боль, одышка, слабость) и психические (тревога, страх смерти) страдания [1,21,33].

Существуют трудности в дифференцировке депрессивных и соматических симптомов заболевания. Такие симптомы как бессонница, потеря аппетита, анергия, снижение либидо являются проявлениями и депрессии, и соматических заболеваний. Это затрудняет выявление истинной природы этих симптомов [111]. С другой стороны, не эпизодические, а персистентные состояния повышенной тревожности и эмоционального напряжения, пониженного настроения и ангедонии на фоне продолжающегося соматического или эндокринного заболевания указывают на формирование психогенного депрессивного состояния [135].

Но самое существенное заключается в том, что нейрофизиологические и нейрохимические механизмы соматогенных депрессивного и тревожного состояний остаются окончательно не выясненными из-за их многокомпонентности. Для большой депрессии и депрессивной фазы маниакально-депрессивного психоза получен ряд экспериментальных и клинических фактов, которые проливают свет на природу этих заболеваний. В частности установлено снижение объемов серого вещества ПФК, вентрального гиппокампа, упрощение дендритной структуры пирамидных нейронов коры и гиппокампа, уменьшение количества глиальных элементов, угнетение синаптической пластичности и нейропластичности, изменения функциональной активности глутамат- и ГАМК-ергических систем головного мозга [69,140]. Отсутствие четких представлений о патогенетических механизмах депрессивного и тревожного синдромов при соматических и эндокринных заболеваниях затрудняет разработку достаточно эффективных методов их профилактики и лечения.

В собственных исследованиях на крысах с аллоксановым диабетом, который расценивают как модель экспериментального сахарного диабета первого типа, выявлены нарушения поведения животных. Эти нарушения проявлялись увеличением времени иммобилизации животных в тесте вынужденного плавания,

что свидетельствует о повышении уровня депрессивности. О повышении уровня тревожности крыс свидетельствует уменьшение времени пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ. Наконец, у крыс с ЭСД установлено снижение способности к обучению и нарушение воспроизведения навыков обучения, судя по увеличению количества сочетаний условного и безусловного стимулов, необходимых для выработки УРАИ и ее латентного времени (рис. 7).

Ранее в качестве основной причины нарушения когнитивных, эмоциональных и мотивационных процессов при СД рассматривали гипергликемию (см. обзор литературы). В условиях гипергликемии усиливается трансформация глюкозы в глутамат и это приводит к повышению уровня глутамата во внеклеточных пространствах мозга, с последующим эксайтотоксическим действием. Однако моделирование влияния высокого уровня глюкозы на гиппокам и мПФК в условиях *in vitro* показало отсутствие выраженного влияния гипергликемии на ткани мозга крыс (рис. 9).

В тоже время, в исследованиях на срезах мозга крыс с ЭСД продолжительностью 4 недели установлено, что хотя релейные свойства глутаматергических синапсов в дорсальном гиппокампе и мПФК, судя по амплитудам пВПСП пирамидных нейронов, незначительно угнетались при интенсивной пресинаптической стимуляции, тем не менее, выявлено ослабление функции постсинаптических глутаматных НМДА-рецепторов (рис. 8, 9). Подобные изменения функциональной активности данной популяции рецепторов наблюдали другие исследователи на модели стрептозотоцин-индуцируемого ЭСД у крыс и эти изменения связывали с уменьшением интенсивности фосфорилирования NR2A- и NR2B-субъединиц в структуре глутаматных НМДА-рецепторов, опосредуемого кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназой II и тирозинкиназами [45]. Гипофункция глутаматных НМДА-рецепторов может быть следствием гипергликемии, но может быть обусловлена и нарушением процессов трансдукции, запускаемых в случае активации инсулиновых

рецепторов в нейронах. Однако длительное воздействие на срезы мозга раствором Кребса с повышенным содержанием глюкозы не вызывало изменений амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов (рис. 9). Более того, показано, что повышение концентрации глюкозы во внеклеточной среде мозга способствует развитию нейропротективного действия в условиях эксайтотоксических и аноксических повреждений мозга [30,160]. С другой стороны, воздействие инсулина на срезы мозга интактных крыс приводило к увеличению НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры (рис. 9). В связи с этим, представляется вероятным, что снижение функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов, скорее всего, связано с ослаблением степени активации нейронных инсулиновых рецепторов. Уменьшение функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов пирамидных нейронов может являться одной из причин нарушений психических функций.

Глутаматные НМДА-рецепторы играют ключевую роль в процессах синаптической пластичности (индукции НМДА-зависимых форм ДП и ДД синаптической передачи) [3,61]. В условиях ЭСД у крыс нарушается синаптическая пластичность пирамидных нейронов области СА1 гиппокампа и V слоя медиальной префронтальной коры, что проявляется в угнетении экспрессии ДП при параллельном усилении развития ДД синаптической передачи (рис. 10), хотя обе эти формы синаптической пластичности являются НМДА-зависимыми. Однако если бы наблюдаемые нарушения синаптической пластичности были обусловлены снижением функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов, следовало бы ожидать угнетения обеих форм синаптической пластичности (как в случае действия средних и высоких доз блокаторов НМДА-рецепторов). Но поскольку при ЭСД угнетается экспрессия только ДП синаптической передачи, это бросает тень сомнения на представления о том, что нарушения синаптической пластичности вызваны только снижением

функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов. Анализ корреляций рангов влияния исследуемых лекарственных веществ на функциональное состояние глутаматных НМДА-рецепторов и развитие синаптической пластичности указывает на отсутствие корреляционной связи между этими процессами. По-видимому, в нарушениях синаптической пластичности пирамидных нейронов коры и гиппокампа помимо дисфункции глутаматных НМДА-рецепторов существенную роль играют и другие факторы, в частности гормоны стресса.

Установлено, что в условиях гипергликемии происходит повышение активности ГГНС и усиление продукции гормонов стресса – кортикотропин высвобождающего гормона, кортикотропина, глюкокортикоидов. Более того, угнетение развития ДП и усиление экспрессии ДД синаптической передачи выявлено в области СА1 гиппокампа животных, подвергнутых стрессогенным воздействиям. Подобные изменения синаптической пластичности воспроизводились агонистами глюкокортикоидных рецепторов и активаторами потенциалзависимых кальциевых каналов, но ослаблялись антагонистами кальция [48, 61]. Воздействие на срезы мозга крыс блокатором кальциевых каналов верапамиллом не вызывало существенных изменений амплитуд пВПСП пирамидных нейронов и их НМДА-компонентов, но ослабляло нарушения синаптической пластичности, связанные с ЭСД (рис. 10). Эти данные указывают на то, что в условиях ЭСД у крыс нарушен кальциевый гомеостаз в пирамидных нейронах. Действительно, в специальных исследованиях было установлено, что вызванное деполяризацией мембран повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в нейронах коры мозга крыс выражено у животных с ЭСД в большей степени по сравнению с контрольными животными, причем названный эффект угнетается блокаторами потенциалозависимых кальциевых каналов L-, но не T-типа [4]. В то же время, прямые указания на то, что инсулин как-то регулирует экспрессию потенциалзависимых кальциевых каналов, отсутствуют. Усиление

внутринейронального кальциевого сигнала у крыс с ЭСД, по-видимому, связано с опосредуемым тирозинкиназным фосфорилированием внутриклеточных субстратов, участвующих в транспорте Ca^{2+} , в условиях дефицита инсулина. С другой стороны, установлено [87,112], что кортикостероиды через посредство глюкокортикоидных рецепторов повышают кальциевую проводимость мембран нейронов за счет усиления экспрессии кальциевых каналов L-типа. Установлено также, что эмоциональные и когнитивные нарушения, возникающие при ЭСД, в значительной степени ослаблялись, когда животным на протяжении четырех дней вводили блокатор глюкокортикоидных рецепторов мифепристон [159]. Следовательно, можно думать, что связанные с ЭСД нарушения психических процессов и синаптической пластичности обусловлены (во всяком случае в определенной степени) сопутствующим диабету повышением уровня кортикостерона, и в меньшей степени снижением функциональной активности нейронных глутаматных НМДА-рецепторов. Ситуация осложняется еще и тем, что при повышении активности ГГНС усиливается секреция кортикотропин высвобождающего фактора и кортикотропина, которые оказывают выраженное действие на нейроны лимбических структур мозга.

Анализ корреляции рангов влияния исследуемых лекарственных веществ на синаптические процессы в пирамидных нейронах префронтальной коры и нарушениями поведения при моделировании сахарного диабета показывает, что способность лекарств уменьшать время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания (уменьшение уровня депрессивности) обнаруживает достоверную корреляционную связь с усилением развития ДП синаптической передачи (табл. 2). Следовательно, можно думать, что в основе высокого уровня депрессивности при моделировании сахарного диабета лежит нарушение синаптической пластичности (угнетение экспрессии ДП синаптической передачи).

Хроническое введение антидепрессантов при ЭСД, с одной стороны, ослабляло повышенный уровень депрессивности на фоне гипергликемии,

несмотря на дефицит функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов. С другой стороны, введение животным инсулина на фоне сформировавшегося сахарного диабета, несмотря на снижение содержания глюкозы в плазме крови и включение механизмов трансдукции, запускаемых активацией инсулиновых рецепторов нейронов, на нарушения синаптической пластичности и психических процессов при ЭСД не влияло (рис. 9, 10). Данные факты указывают на то, что дефицит инсулина и гипергликемия в случаях ЭСД являются лишь пусковым звеном, индуцирующим другой (кортикостероидный) механизм возникновения нарушений синаптической пластичности, а также психических процессов.

Повышение уровня глюкокортикоидов в крови и мозгу животных сопровождается нарушениями глутаматергической синаптической передачи, синаптической пластичности и поведения животных. Так, изоляция новорожденных крысят от матерей вызывает в последующем у взрослых животных уменьшение экспрессии NR2B-субъединиц глутаматных НМДА-рецепторов и Глуп1- и 2-субъединиц глутаматных AMPA-рецепторов в нейронах гиппокампа и коры [29]. Хронические стрессогенные воздействия обуславливают снижение активности кальций/цАМФ-зависимого транскрипционного фактора CREB, а также угнетают экспрессию главного нейротрофина мозга BDNF и сосудистого/эндотелиального фактора роста VEGF [59,86,166]. В результате этих изменений нарушаются синаптическая пластичность и гиппокамп-зависимые формы памяти, увеличиваются уровни депрессивности и тревожности животных.

В свою очередь, хроническое введение антидепрессантов обеспечивает позитивную (ап-) регуляцию сигнального пути аденилатциклаза – цАМФ – протеинкиназа А. Это связано с накоплением во внеклеточных пространствах мозга норадреналина и серотонина и активацией позитивно сопряженных с аденилатциклазой β -адрено- и серотониновых (5HT-4-6) рецепторов [1,70]. В

свою очередь, протеинкиназа А и другие (митогенактивируемые) киназы повышают активность фактора транскрипции CREB в гиппокампе и фронтальной коре [84]. В этих же структурах мозга в условиях хронического введения антидепрессантов усиливается экспрессия основного нейротрофина мозга – BDNF, который повышает выживаемость нейронов, интенсивность синаптогенеза и синаптическую пластичность [119]. Кроме того, на фоне хронического введения антидепрессантов усиливается образование эндотелиального фактора роста VEGF, действие которого в отношении синаптической пластичности подобно действию BDNF [86,166]. Приведенные факты позволяют думать, что антидепрессанты ослабляют наблюдаемые при ЭСД нарушения синаптической пластичности пирамидных нейронов гиппокампа и коры и это лежит в основе позитивного влияния данных агентов на нарушения поведения, отмечаемые в условиях развития ЭСД.

Коррекция исследуемыми лекарственными веществами нарушения воспроизведения навыков обучения (латентное время УРАИ) обнаруживает достоверную корреляционную связь с их способностью уменьшать дефицит развития ДП синаптической пластичности кортикальных пирамидных нейронов (табл. 2). Это хорошо вписывается в общепринятые в настоящее время представления о том, что на синаптическом уровне в основе формирования следов (энграмм) памяти, их консолидации и воспроизведения лежат процессы синаптической пластичности [153].

Несмотря на высокую коморбидность тревоги и депрессии в клинических условиях и параллельное повышение уровней депрессивности и тревоги у животных при моделировании патологии нейрофизиологические механизмы, лежащие в основе этих психопатологических процессов, существенно различаются. Судя по анализу корреляции рангов влияния лекарственных веществ на синаптические процессы и поведение, повышение уровня тревожности у крыс при моделировании сахарного диабета не связано с усилением развития ДП, но

обнаруживает достоверную корреляционную связь с их способностью угнетать избыточное развитие ДД синаптической передачи (табл. 2). Установлено, что миндалины, особенно их базолатеральные отделы при повышении их активности являются генераторами тревоги. С другой стороны, медиальная префронтальная кора оказывает прямое и опосредованное угнетающее влияние на активность нейронов упомянутого отдела миндалины [1]. Следовательно, угнетение синаптической передачи в префронтальной коре во время развития ДД, способствует растормаживанию базолатерального отдела миндалины и вызывает повышение уровня тревожности.

Относительно перспектив медикаментозной терапии эмоциональных и когнитивных нарушений при ЭСД можно высказать следующие соображения. Патогенетическая терапия сахарного диабета уменьшает гипергликемию, но, чем позже начато лечение заболевания, тем меньше вероятность ослабления сопутствующих эмоциональных и когнитивных расстройств [11]. Антидепрессанты наиболее эффективно ослабляют повышенный уровень депрессивности, но слабее ослабляют тревогу, особенно флуоксетин. Бензодиазепиновый транквилизатор диазепам практически полностью устраняет тревогу, но не влияет на уровень депрессивности животных и нарушение воспроизведения навыков обучения. Антагонист Ca^{2+} верапамил умеренно ослаблял нарушения эмоциональных и мнестических процессов при ЭСД. Это позволяет рекомендовать доклинические исследования комбинаций верапамила с другими психофармакологическими средствами для коррекции психических расстройств при моделировании разных форм сахарного диабета.

Понимание патогенеза нарушений когнитивных и эмоциональных процессов при заболеваниях, в основе которых лежит хроническое воспаление, затрудняется многообразием продуктов воспаления, обладающих активностью в отношении нейронов лимбических структур мозга. К их числу могут быть отнесены провоспалительные цитокины (интерлейкины, интерфероны, фактор некроза

опухолей), циклические эндоперекиси арахидоновой кислоты (простагландины, лейкотриены), нейрофизиологические и нейрохимические системы мозга, формирующие хроническую боль.

В наших исследованиях на фоне хронического воспаления кожи у крыс наблюдали возрастание уровней депрессивности и тревожности, а также нарушения выработки и воспроизведения навыков обучения (рис. 17 – 19). Можно думать, что наблюдаемые нарушения обусловлены изменениями функциональной активности нейронных ансамблей, в первую очередь, центральной лимбической структуры мозга – мПФК. Представляется, что эти изменения могут быть вызваны продуктами воспалительной реакции – простагландинами, лейкотриенами, фрагментами мембран погибших клеток, провоспалительными цитокинами. Вполне допустимо, что эти вещества, активируя нейрональные мембранные рецепторы, могут изменять фундаментальные параметры жизнедеятельности нейронов – генерацию постсинаптических потенциалов (эффективность синаптической передачи) и потенциалов действия (возбудимость).

В исследованиях *in vitro* на срезах мПФК выявлено снижение базальной глутаматергической передачи, в синапсах пирамидных нейронов V слоя данной структуры (рис. 14). Ослабление базальной глутаматергической передачи в гиппокампе в условиях хронического воспаления наблюдали и другие исследователи [121]. Генерация глутаматергических ВПСП нейронов коры и гиппокампа опосредована активацией ионофорных AMPA- и НМДА-рецепторов [39]. Поэтому вполне допустимо, что ослабление базальной синаптической передачи обусловлено снижением активности глутаматных AMPA- и/или НМДА-рецепторов. Однако в этих условиях наблюдали увеличение амплитуд фармакологически изолированного НМДА-компонента пВПСП (рис. 14, 15). Снижение амплитуд ВПСП пирамидных нейронов с одновременным увеличением их НМДА-компонентов в условиях хронического воспаления может быть

следствием либо шунтирования токов, опосредуемых активацией глутаматных AMPA-рецепторов [35], либо гомеостатической пластичностью [106]. Возрастание амплитуд НМДА-компонентов ВПСП может быть следствием либо увеличением плотности НМДА-рецепторов в постсинаптических мембранах, либо повышением уровня фосфорилирования рецепторов различными протеинкиназами и ростом их хемосенситивности без изменения количества рецепторов [35].

Экзоцитоз НМДА-рецепторов и, следовательно, их количество в постсинаптических уплотнениях среди прочих факторов регулируется моноаминами. Действительно, активируя альфа-адрено- и 5-ГТ1А рецепторы норадреналин и серотонин, препятствуют экзоцитозу и уменьшают в постсинаптических уплотнениях количество содержащих NR2B субъединицу НМДА-рецепторов [106]. В наших исследованиях установлено, что на фоне хронического воспаления нарушается кругооборот серотонина, о чем свидетельствует ослабление эффектов серотонина, который подвергается обратному захвату, но не буспирона, который этому процессу не подвержен (табл. 5). Это позволяет думать, что при хроническом воспалении усиливается обратный захват 5-ГТ в везикулы серотонинергических аксонов и совпадает с данными литературы, согласно которым провоспалительные цитокины стимулируют обратный захват моноамина [144]. Если это так, то в связи с ослаблением серотонинергических влияний на пирамидные нейроны мПФК в глутаматергических синапсах должно увеличиться количество содержащих NR2B субъединицу НМДА-рецепторов и понизиться чувствительность ответов нейронов, опосредуемых активацией глутаматных НМДА-рецепторов, к действию блокаторов селективных в отношении НМДА-рецепторов субъединичной композиции NR1/NR2B. Этому, однако, противоречит то обстоятельство, что блокатор содержащих NR2A субъединицу НМДА-рецепторов цинка сульфат действует подобно кетамину [103], а предпочитающий NR2B субъединицу

галоперидол действует почти одинаково на фоне и в отсутствие воспаления (табл. 4). Такой эффект блокаторов НМДА-рецепторов возможен в том случае, если имеет место повышение хемосенситивности НМДА-рецепторов вследствие их фосфорилирования без изменения их количества. Наблюдаемое при воспалении увеличение ответов нейронов, опосредуемых активацией НМДА-рецепторов, может быть следствием фосфорилирования формирующих рецепторы субъединиц. Это может быть тирозинкиназное фосфорилирование вызываемое провоспалительными цитокинами, а также фосфорилирование остатков серина или треонина в структуре глутаматных НМДА-рецепторов, индуцируемое простагландинами [45,124]. Тем не менее, наиболее вероятно, что наблюдаемое в условиях воспаления увеличение амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов мПФК обусловлено частичным увеличением плотности постсинаптических НМДА-рецепторов и повышением их хемосенситивности.

Усиление функциональной активности НМДА-рецепторов в мембранах пирамидных нейронов мПФК может быть одной из причин нарушений синаптической пластичности. Но наблюдаемое угнетение экспрессии и ДП и ДД синаптической передачи на фоне хронического воспаления противоречит существующим представлениям, поскольку обе формы синаптической пластичности являются НМДА-зависимыми и при усилении функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов экспрессия обеих форм синаптической пластичности должна возрастать. В самом деле, у трансгенных мышей с избыточной экспрессией НМДА-рецепторов наблюдали усиление, а у мышей с делецией НМДА-рецепторов отмечено нарушение экспрессии ДП в гиппокампе [139,164]. С другой стороны, умеренная (4 – 6 часов) депривация сна вызывала в пирамидных нейронах области CA1 гиппокампа мышей увеличение количества содержащих NR2A субъединицу НМДА-рецепторов, возрастание амплитуд НМДА-компонентов ВПСТ и нарушение экспрессии ДП синаптической передачи [139]. Наблюдаемые изменения авторы связывают со смещением вправо

кривой метапластичности. Установлено также, что на фоне резерпиновой поведенческой депрессии у крыс наблюдается возрастание амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов области CA1 за счет рецепторов, содержащих NR2A субъединицу, затруднение экспрессии ДП, но облегчение развития ДД синаптической передачи за счет сдвига вправо кривой метапластичности [2]. Поскольку возросшие на фоне хронического воспаления НМДА-компоненты пВПСП кортикальных нейронов были менее чувствительны к блокирующему действию ионов цинка, можно думать, что наблюдаемый эффект обусловлен возрастанием количества и/или хемосенситивности содержащих NR2A субъединицу НМДА-рецепторов и это вызывает смещение кривой зависимости экспрессии ДП от стимуляции в сторону более высоких частот. Действительно, если синаптические входы пирамидных нейронов V слоя мПФК подвергнуть более интенсивной (200 Гц) тетанической стимуляции, то в этом случае ДП синаптической передачи развивается.

Поскольку в мембранах нейронов рецепторы интерлейкинов локализованы с глутаматными НМДА-рецепторами весьма вероятно, что цитокины через посредство киназы ERK 1 вызывают фосфорилирование НМДА-рецепторов по остаткам тирозина и повышают их хемосенситивность [163]. С другой стороны, наблюдаемое угнетение развития ДД синаптической передачи вместо ожидаемого облегчения наиболее вероятно обусловлено развитием хемоиндуцируемой продуктами воспаления ДД – снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов мПФК, которая вызывает окклюзию тетанус-индуцируемой ДД синаптической передачи. Установлено, что воздействие на срезы гиппокампа ИЛ-1 β вызывает развитие хемоиндуцируемой ДД синаптической передачи, на фоне которой низкочастотная стимуляция не вызывает развития ДД синаптической передачи [90,157]. Подобная ситуация наблюдается при воздействии на срезы мозга инсулина [45,68]. Любопытно, что важное звено процессов трансдукции при активации инсулиновых и

интерлейкиновых рецепторов – тирозинкиназное фосфорилирование субстратов [124].

Природа повышения уровня депрессивности (увеличение времени иммобилизации) у крыс с хроническим воспалением не ясна. Поскольку величины этого показателя обращаются антидепрессантами, можно думать, что уровень депрессивности определяется дефицитом серотонина в связи с усилением его реаптейка. В то же время, антииммобилизационная активность ингибиторов ЦОГ - нимесулида и парацетамола - затруднительна для понимания. Установлено, что в мозге имеются ЦОГ-1 и ЦОГ-2 [44], которые обеспечивают синтез простагландинов. Однако данные о влиянии простагландинов на эмоционально-мотивационные процессы крайне скудны и противоречивы. Тем не менее, имеются данные, согласно которым простагландины через посредство сопряженных с аденилатциклазой простагландиновых рецепторов и сигнального пути цАМФ – протеинкиназа А фосфорилируют остатки серина в структуре NR2 субъединиц глутаматных НМДА-рецепторов, а селективный ингибитор ЦОГ-2 целекоксиб усиливает терапевтическое действие антидепрессанта ребоксетина [171], т.е. в какой-то степени ингибиторы ЦОГ имеют отношение к глутаматергической системе мозга. Кроме того, имеются данные, согласно которым хронический болевой синдром повышает функциональную активность НМДА-рецепторов пирамидных нейронов другого отдела ПФК – передней поясной коры – через посредство не связанной с рецепторами кальций/кальмодулин-зависимой аденилатциклазы 1 [121].

Что важнее для развития депрессивного синдрома при воспалении – дефицит 5-НТ-ергической системы мозга или избыток функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов? Прямой ответ на этот вопрос пока отсутствует. Если бы дефицит серотониновых влияний был бы ведущим механизмом депрессивного синдрома, вероятно флуоксетин был самым эффективным антидепрессивным средством. Но ингибиторы ЦОГ слабее по сравнению с антидепрессантами противодействуют увеличению времени

иммобилизации в тесте вынужденного плавания, а блокатор НМДА-рецепторов кетамин в незначительной степени уступает ингибиторам ЦОГ по активности (табл. 7). С другой стороны, только нимесулид, но не парацетамол противодействует приросту амплитуд НМДА-компонента пВПСП пирамидных нейронов, а у антидепрессантов этот эффект выражен в максимальной степени (рис. 15). Все это позволяет думать, что наблюдаемый при хроническом воспалении депрессивный синдром скорее является следствием усиления активности НМДА-рецепторов в проекционных нейронах мПФК. Это подтверждается тем, что на фоне хронического воспаления снижается чувствительность НМДА-рецепторов к воздействию веществ, снижающих их функциональную активность и к действию блокатора селективного в отношении NR2A, но не NR2B субъединицы. Другими исследователями установлено, что фосфорилирование остатка тирозина 1325 в структуре NR2A субъединицы НМДА-рецепторов повышает уровень депрессивности животных, а у мышей с делецией этой субъединицы глутаматных НМДА-рецепторов существенно снижен уровень депрессивности и усилен метаболический оборот 5-ГТ и дофамина [168]. Тем не менее, способность используемых лекарственных веществ уменьшать время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания в условиях моделирования хронического воспаления обнаруживает значимую корреляционную связь с их коррегирующим влиянием на развитие ДП и в меньшей степени ДД синаптической передачи в пирамидных нейронах префронтальной коры (табл. 6). Т. е., как и при моделировании сахарного диабета в условиях хронического воспаления в основе повышения уровня депрессивности животных лежит нарушение пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов медиальной префронтальной коры. Это лишний раз подкрепляет справедливость предположения о том, что в основе повышения уровня депрессивности при сахарном диабете и хроническом воспалении лежит нарушение нейропластичности и ее важнейшей составляющей синаптической пластичности нейронов лимбических структур мозга.

Возрастание уровня тревожности у крыс с хроническим воспалением, о чем свидетельствует уменьшение времени пребывания животных в открытых рукавах ПКЛ, имеет иную по сравнению с депрессивностью нейрохимическую природу. На это указывает то, что все исследуемые вещества кроме диазепама, имипрамина и верапамила не препятствовали развитию этого поведенческого эффекта. Очевидно, что анксиогенное влияние хронического воспаления не связано с повышением функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов пирамидных нейронов мПФК. Считают, что пусковым звеном страха и тревожных состояний является повышение активности нейронов базолатеральных отделов миндалины, а ПФК является модулятором этих состояний. В условиях воспаления повышается активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [44,163] и наблюдается повышения уровня либератора кортикотропина, который является мощным стимулятором нейронов базолатерального отдела миндалины и существенно повышает их активность [44]. Поскольку диазепам является позитивным модулятором содержащих альфа 2 субъединицу ГАМК_A - рецепторов, которые доминируют в этом отделе миндалины, он усиливает процессы торможения и понижает функциональную активность нейронов базолатерального отдела миндалины. Что касается имипрамина, его противотревожное действие не связано с угнетением обратного захвата серотонина, поскольку флуоксетин не обладает такой активностью. Вероятно, анксиолитическая активность имипрамина обусловлена присущим препарату М-холиноблокирующим действием [4]. Снижение уровня тревоги, обусловленное верапамилем наиболее вероятно обусловлено понижением возбудимости проекционных нейронов базолатерального отдела миндалины, поскольку высокопороговая Ca²⁺ проводимость мембран дендритов этих нейронов играет важную роль в регуляции их возбудимости и синаптической пластичности. Наиболее высокое значение коэффициента корреляции рангов выявляется во влиянии лекарственных веществ на НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов префронтальной коры и уровень тревожности животных (табл. 6). С

одной стороны, частично связанное с этим нарушение синаптической пластичности проекционных нейронов префронтальной коры ослабляет ее возможности поддерживать оптимальный уровень функциональной активности лимбических структур [63]. С другой стороны, усиление реаптейка 5-ГТ в условиях хронического воспаления усиливает активность нейронов базолатерального ядра миндалины, что ведет к возрастанию тревожности [62].

Мнемотропные нарушения на фоне хронического воспаления проявляются увеличением латентного периода выработанной УРАИ и, в меньшей степени, необходимого количества сочетаний условного и безусловного раздражителей для получения стабильной УРАИ. Это указывает на то, что в большей степени нарушается процесс реконсолидации уже существующей в мозге информации и в меньшей степени ее формирования (консолидации) на нейронных носителях. Считают, что в нейрохимическом отношении процессы консолидации и реконсолидации информации приблизительно одинаковы [99]. Анализ корреляционных связей влияния исследуемых лекарственных веществ на синаптическую пластичность и нарушения поведенческой реакции воспроизведения навыка УРАИ показывает, что последние обусловлены угнетением развития ДП и ДД синаптической передачи (табл. 6).

Наиболее вероятно, что противодействие имиπραмина увеличению латентного времени УРАИ связано с угнетением реаптейка норадреналина и усилением влияний норадренергических нейронов, которые способствуют поддержанию внимания, более легкому воспроизведению следов памяти, в частности облегчают распознавание относительно слабых запахов [104]. Природа вызываемого верапамиллом облегчения воспроизведения навыка УРАИ при хроническом воспалении не совсем ясна. Наблюдаемое при воспалении повышение функциональной активности п/з Са каналов L-типа [106,170] вызывает увеличение амплитуды кальций-активируемых калиевых токов, которые наиболее ярко проявляются в виде тока медленной послеспайковой гиперполяризации – $I_{АНР}$. Последняя усиливает магниевый блок катионных

каналов глутаматных НМДА-рецепторов и затрудняет их активацию, необходимую для воспроизведения навыков обучения. Верапамил наиболее вероятно ограничивает поступление Ca^{2+} в цитоплазму нейронов и генерацию медленной послеспайковой гиперполяризации.

Перспективы фармакологической коррекции третьей составляющей триады нарушений поведения на фоне хронического воспаления – замедление воспроизведения навыков обучения (следов памяти) наиболее скромны. Действительно, только имипрамин и верапамил оказывали умеренное коррегирующее действие (табл. 7), причем мнемотропное действие имипрамина развивалось только в условиях его хронического введения.

Воздействие хронического введения синтетического глюкокортикоида дексаметазона на лимбические структуры мозга имеет определенные черты сходства с влиянием хронического стресса. Наблюдаемые в условиях хронического введения Дмз повышение уровней тревожности и депрессивности, а также нарушение выработки и воспроизведения навыков УРАИ (рис. 20 – 22) может быть следствием ослабления глутаматергической синаптической передачи и изменений синаптической пластичности в лимбических структурах мозга (в нашем случае в мПФК). Схематически можно представить, что первичное звено, приводящее к нарушениям эмоциональных и когнитивных процессов – недостаточность возбуждающей глутамтергической синаптической передачи между и внутри лимбических структур. Это, в свою очередь, затрудняет реализацию пластических феноменов в синаптических полях нейронов, на которых базируется приобретение навыков и приспособление к изменяющимся условиям жизни. Действительно, имеются убедительные данные о том, что исполнительные функции зависят от формирования и сохранения длительных нейрональных следов в мПФК [63,167], а синаптическая пластичность коры является основой этих следов. Длительные изменения частоты разрядов нейронов и синаптической передачи в мПФК определяются при выполнении

дискриминационных задач и адаптации поведения к изменяющимся условиям окружающей действительности [167].

О том, что хроническое введение крысам Дмз вызывает нарушение глутаматергической возбуждающей синаптической передачи в мПФК, свидетельствует снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов и их НМДА-компонентов (рис. 23). Снижение амплитуд пВПСП имеет постсинаптическую природу, поскольку этот эффект, как отмечалось ранее, не сопровождался изменением величины парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс. Почему Дмз в условиях хронического введения угнетает глутаматергическую передачу? При однократном введении животным или воздействию на срезы мозга ГК, напротив, наблюдали облегчение синаптической передачи [142,167]. Установлено, что ГК снижают функциональную активность нейрональных и глиальных транслоказ глутамата. Хроническое повышение внеклеточной концентрации глутамата должно вызывать гомеостатическую даун-регуляцию ионотропных глутаматных рецепторов [128]. Действительно, как следует из рис. 20, наблюдается практически параллельное снижение амплитуд как пВПСП, так и составляющих их компонентов. Но если бы даун-регуляция глутаматных рецепторов была связана исключительно с угнетением активности глутаматных транспортеров, то в этом случае должно наблюдаться увеличение продолжительности ВПСП [3]. Однако в условиях хронического введения Дмз мы не наблюдали увеличения продолжительности пВПСП и их НМДА-компонентов (рис. 23).

AMPA- и НМДА-рецепторы являются гетеродимерами, причем комбинации формирующих эти рецепторы субъединиц зависят от времени развития мозга и их локализации в мозге. Повсеместно в мозге локализованы Глур1 субъединица AMPA и NR1 субъединица НМДА-рецепторов [1]. Поскольку наблюдается определенный параллелизм в снижении величин ответов нейронов, опосредуемых активацией ионотропных глутаматных рецепторов (рис. 20), можно

думать, что Дмз через посредство ядерных ГК рецепторов угнетает экспрессию повсеместно распространенных этих субъединиц глутаматных рецепторов. Это подтверждается тем, что неселективный блокатор НМДА-рецепторов кетамин, как и блокаторы селективные в отношении НМДА-рецепторов, содержащих NR2A и NR2B субъединицы, Zn^{2+} и галоперидол [100] соответственно более интенсивно, но в одинаковой степени по сравнению с контролем угнетали НМДА-компоненты пВПСП (табл. 3). Другие авторы в исследованиях на префронтальной коре крыс установили, что хроническая активация ГК рецепторов вызывает усиление эндоцитоза и разрушения Глу P1 и NR1 субъединиц глутаматных рецепторов, которое опосредовано протеосомными E3 убиквитин лигазами Nedd4-1 и Fbx2 соответственно [121].

Снижение функциональной активности НМДА-рецепторов (рис. 20) может быть причиной нарушения экспрессии ДП и ДД синаптической передачи в пирамидных нейронах мПФК и в этом случае обе эти формы синаптической пластичности должны угнетаться, поскольку они НМДА-зависимы [118]. Однако в условиях хронического введения Дмз мы наблюдали угнетение ДП, но облегчение развития ДД синаптической передачи. Одной из вероятных причин наблюдаемых изменений может быть изменение метапластичности, а именно смещение кривой метапластичности вправо. В этих условиях должна уменьшаться величина ДП в диапазоне частот 30 – 100 Гц, но индукция ДД должна усиливаться при частотах > 5 Гц [3]. Однако наблюдаемое в наших исследованиях усиление развития ДД, вызываемой пресинаптической стимуляцией частотой 5 Гц (рис. 21), противоречит таким представлениям. Представляется, что, частичная функциональная блокада НМДА-рецепторов пирамидных нейронов мПФК является причиной нарушения пластических свойств их синапсов. Имеются данные, что частичная фармакологическая блокада НМДА-рецепторов пирамидных нейронов мПФК препятствует развитию ДП, но облегчает экспрессию (демаскирует) ДД синаптической передачи [121].

Хроническое воздействие Дмз на мозг крыс вызывает параллельное возрастание уровней тревожности и депрессивности, которые коморбидны при разных формах депрессии у человека [44]. Их основа - дисфункция мПФК. Известно, что проекционные нейроны этой зоны коры иннервируют структуры, регулирующие уровень тревожности и депрессивности (миндалины, вентральная покрышка, прилежащее ядро); при этом мПФК через посредство тормозных интернейронов угнетает активность базолатеральной миндалины и возбуждает прилежащее ядро [44]. Именно дезингибция латеральной миндалины из-за ослабления влияний мПФК, а также разрастание дендритов ее нейронов и увеличение количества дендритных шипиков и определяют рост уровня тревожности [95]. Следовательно, для реализации анксиолитического эффекта необходимо снизить возбудимость нейронов миндалины. Таким действием обладают бензодиазепиновые транквилизаторы, которые усиливают ГАМКергическое торможение активности нейронов различных структур мозга и, в первую очередь, латеральной миндалины [76], и это приводит к существенному понижению тревожности у подвергнутых воздействию Дмз крыс, которым вводили диазепам, (рис.20). Но противотревожное действие диазепама сопровождается возрастанием уровня депрессивности и мнемоторными нарушениями – ухудшением воспроизведения УРАИ. Поэтому терапевтическая ценность диазепама как средства коррекции психотропных побочных эффектов глюкокортикоидной терапии невелика.

Антидепрессанты – селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин и неизбирательный ингибитор реаптейка как норадреналина, так и серотонина имипрамин – снижали повышенный хроническим введением Дмз уровень депрессивности крыс, но не оказывали влияния на уровень тревожности и нарушения формирования и воспроизведения навыков обучения. Если к этому еще добавить то, что клинические эффекты антидепрессантов развиваются достаточно медленно, становятся очевидными трудности использования

антидепрессантов для лекарственной коррекции побочных эффектов, возникающих при хроническом использовании ГК.

В тоже время, блокатор п/з Ca^{2+} каналов L-типа верапамил в определенной степени ослабляет вызываемые Дмз повышение уровней тревожности и депрессивности, а также нарушения выработки и воспроизведения навыков обучения. В экспериментальных условиях анксиолитическое и антидепрессивное действие верапамила и других блокаторов п/з Ca^{2+} каналов L-типа наблюдали и другие исследователи [162,164]. Однако нейрофизиологические и нейрохимические механизмы этих эффектов не выяснены. Анксиолитический эффект верапамила вероятно обусловлен восстановлением пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов V слоя мПФК, аксоны которых проецируются в гиппокамп, миндалину и вентральный стриатум [151,162]. Кроме того, анксиолитический эффект верапамила может быть связан со снижением активности проекционных нейронов базолатеральной миндалины. Установлено, что совместная активация НМДА-рецепторов и высокопороговых п/з Ca^{2+} каналов L-типа приводит к возникновению в дендритах пирамидных нейронов миндалины кальциевых спайков, что повышает их возбудимость и нарушает синаптическую пластичность [162]. Верапамил препятствует возникновению дендритных кальциевых спайков.

Природа антидепрессивного эффекта верапамила неясна. Можно думать, что этот эффект связан с частичным восстановлением пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов мПФК. Это же, вероятно, определяет позитивное влияние верапамила на мнемотропные расстройства. Известно, что тетаническая стимуляция синаптических входов, необходимая для индукции ДП, вызывает серию ВПСП, которые суммируются и возникающая при этом деполяризация активирует высокопороговые п/з Ca^{2+} каналов L-типа [79,162]. Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} способствует развитию медленной следовой гиперполяризации (АНР), которая усиливает

блокаду катионных каналов НМДА-рецепторов и препятствует развитию ДП [155]. Верапамил ограничивает развитие АНР, повышает функциональную активность НМДА-рецепторов и облегчает развитие ДП синаптической передачи. Это способствует усилению синаптической пластичности проекционных нейронов мПФК, восстановлению нарушенных взаимодействий мПФК с миндалинами, прилежащим ядром, вентральной покрывкой, а также консолидации и реконсолидации навыков обучения [163].

Префронтальная кора – область мозга, которая контролирует «исполнительные» функции высшего порядка, такие как рабочая (оперативная) память, восприятие новизны, оценка текущей ситуации, выбор парадигмы поведения, регуляция эмоционального статуса [1]. С другой стороны, установлено, что глутаматергическая синаптическая передача, которая определяет активность нейронов ПФК, является ключевым звеном генеза вышеперечисленных функций [1]. С нарушением глутаматергической синаптической передачи в мПФК мы связываем нарушения психических функций мозга при ЭСД, хроническом воспалении кожи и хроническом введении синтетического глюкокортикоида дексаметазона. Наиболее существенное нарушение глутаматергической передачи в мПФК на фоне ЭСД, хронического воспаления, дексаметазоновой интоксикации – угнетение синаптической пластичности в виде ослабления ДП, но облегчения ДД синаптической передачи. В основе угнетения синаптической пластичности лежат нарушения функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов на которые наслаиваются вызываемые стрессом нарушения кальциевого гомеостаза нейронов. Такое неблагоприятное сочетание нейрохимических механизмов затрудняет подбор психофармакологических средств, необходимых для ослабления или устранения психических нарушений.

Таблица 11 . Сравнительная качественная характеристика активности исследуемых лекарственных веществ как корректоров нарушения поведения при моделировании патологии

Исследуемое вещество	Моделирование сахарного диабета			Моделирование хронического воспаления			Хроническое введение дексаметазона		
	Уровень депрессивности	Уровень тревоги	Дефект УРАИ	Уровень депрессивности	Уровень тревоги	Дефект УРАИ	Уровень депрессивности	Уровень тревоги	Дефект УРАИ
Протофан	0	0	0	#	#	#	#	#	#
Имипрамин	++	++	+	++	+	+	++	0	0
Флуоксетин	++	+	++	++	0	0	++	0	0
Нимесулид	*	*	*	+	0	0	*	*	*
Парацетамол	*	*	*	+	0	0	*	*	*
Верапамил	+	+	+	++	+	+	+	++	+
Диазепам	0	++	0	0	++	0	0	++	@
Кетамин	¥	¥	¥	+	+	0	¥	¥	¥

++ - максимальная активность; + - умеренная активность; 0 – отсутствие влияния.

Данные вещества не применялись по причинам: # - отсутствия дефицита инсулина; * - отсутствия признаков воспаления; ¥ - снижения функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов. @ - вещество усиливало исследуемое нарушение.

При моделировании различной по патогенезу патологии мы наблюдали нарушения психических процессов, которые проявлялись изменениями поведения животных – увеличение времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания, характеризующее уровень депрессивности; уменьшение времени пребывания животных в открытых рукавах крестообразного лабиринта, свидетельствующее о возросшей тревожности; увеличение латентного времени воспроизведения УРАИ, характеризующее нарушение мнестических процессов. Перечисленная триада

нарушения поведения при всех формах изучаемой патологии различается лишь количественно. Анализ способности исследуемых лекарственных веществ корректировать составляющие триады поведенческих нарушений показывает, что большинство из них обладают парциальной активностью (табл.11)

Неизбирательный ингибитор обратного захвата норадреналина и 5-ГТ (имипрамин) демонстрируют выраженную корригирующую активность в отношении триады поведенческих нарушений при ЭСД, умеренную активность при хроническом воспалении и минимальную активность при хроническом введении дексаметазона (табл. 11). Селективный ингибитор обратного захвата 5-ГТ флуоксетин уступает имипрамину по корригирующей активности нарушения поведения при моделируемой патологии (табл.11). Ингибиторы ЦОГ – нимесулид и парацетамол обнаруживали умеренную антидепрессивную активность при моделировании хронического воспаления, но не оказывали влияния на другие составляющие триады поведенческих нарушений (табл.11).

Бензодиазепиновый транквилизатор диазепам обладал выраженным противотревожным действием при всех исследуемых формах моделируемой патологии. Однако на уровень депрессивности и нарушение воспроизведения навыка УРАИ диазепам корригирующего влияния не оказывал; более того, при хроническом введении дексаметазона диазепам даже ухудшал воспроизведение УРАИ (табл.10).

Блокатор высокопороговых потенциалозависимых кальциевых каналов L-типа верапамил подобно имипрамину оказывал корригирующее действие на нарушения поведения при всех формах моделируемой патологии, однако по относительной активности он уступал антидепрессанту (табл. 10). «Широкий» спектр корригирующей нарушения поведения активности верапамила косвенно отражает повышение функциональной активности потенциалозависимых кальциевых каналов в лимбических структурах мозга при моделируемой патологии. Действительно в случае экспериментального диабета и при

хроническом введении дексаметазона в крови и мозге повышается уровень глюкокортикоидов, причем в первом случае активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы вызывает рост уровня кортикостерона, а во втором случае дексаметазон имитирует действие кортикостерона. Глюкокортикоиды через посредство ядерных рецепторов усиливают экспрессию высокопороговых кальциевых каналов в мембранах нейронов лимбических структур [164].

Повышение активности потенциалозависимых кальциевых каналов на фоне воспаления связано с посттрансляционной модификацией субъединиц, формирующих каналы, продуктами воспаления белковой и липидной природы [164]. Заслуживает внимания и то обстоятельство, что блокаторы высокопороговых кальциевых каналов ослабляют воспаление, уменьшая кальциевый сигнал в цитоплазме полиморфноядерных лейкоцитов [66,79,151]. Уменьшение воспаления, помимо прочих эффектов блокаторов кальциевых каналов, может быть одним из компонентов вызываемого веществами ослабления нарушений поведения. Вероятно, умеренная активность верапамила в плане коррекции нарушений поведения животных обусловлена его низкой проницаемостью через гематоэнцефалический барьер.

Использование клинически активных антидепрессантов (модуляторов моноаминергических процессов) для коррекции эмоциональных и когнитивных нарушений при соматических заболеваниях проблематично, поскольку их тимолептический и психостимулирующий эффекты развиваются через 2 – 3 недели систематического применения. Это обстоятельство делает необходимым разработку быстродействующих антидепрессантов, основные эффекты которых развиваются в течение часов. Прототипом таких антидепрессантов могут быть блокаторы глутаматных НМДА-рецепторов и нейрокининовых 1 рецепторов. Но блокаторы глутаматных НМДА-рецепторов имеет смысл применять при эмоциональных и когнитивных нарушениях, наблюдаемых при хронической боли или хроническом воспалении, поскольку в этих ситуациях имеет место повышения функциональной активности глутаматных НМДА-рецепторов (глава

5). Однако при сахарном диабете и гиперкортизолемии имеет место даун-регуляция глутаматных НМДА-рецепторов, поэтому применение блокаторов данных рецепторов в этих ситуациях неприемлемо. Для этих случаев больше подходит другая группа быстродействующих антидепрессантов, прототипом которых может быть блокатор нейрокининовых 1 (NK 1) рецепторов МК-869 [144].

Представляется, что более подходящими для коррекции эмоциональных и мнестических нарушений при сахарном диабете и хроническом воспалении являются блокаторы высокопороговых кальциевых каналов L-типа, которые, судя по результатам исследования, являются психокорректирующими средствами «широкого спектра». Помимо этого, в соответствии с литературными данными, антагонисты кальция обладают противовоспалительным действием и способностью корригировать метаболические нарушения при сахарном диабете [66,79,151]. Прототипами этой группы средств могут служить липофильные, проникающие в мозг производные фенилалкиламинов и дигидропиридинов второго/третьего поколений.

ВЫВОДЫ

1. При моделировании различной по этиологии патологии выявлено выраженное в разной степени угнетение глутаматергической синаптической передачи в проекционных нейронах префронтальной коры, но разнонаправленные изменения компонентов синаптических ответов нейронов, опосредуемых активацией глутаматных НМДА-рецепторов.

2. На фоне экспериментального сахарного диабета и хронического введения дексаметазона нарушения синаптической пластичности проявлялись угнетением развития длительной потенциации, но усилением развития длительной депрессии синаптической передачи; при моделировании хронического воспаления обе формы синаптической пластичности угнетались.

3. Несмотря на разнообразие изменений синаптических процессов в префронтальной коре при моделируемой патологии воспроизводились стереотипные поведенческие нарушения: рост уровней депрессивности и тревожности и замедление воспроизведения навыка обучения.

4. Анализ корреляционных связей влияния используемых лекарственных веществ на синаптические процессы и поведенческие реакции животных указывает, что наблюдаемые при моделировании патологии увеличение времени иммобилизации (рост уровня депрессивности) и латентного времени УРАИ (нарушение воспроизведение навыков обучения) обусловлены угнетением развития длительной потенциации синаптической передачи. Уменьшение времени пребывания крыс в открытых рукавах крестообразного лабиринта (рост уровня тревожности) имеет многокомпонентную нейрофизиологическую организацию.

5. Используемые для коррекции нарушений поведенческих реакций лекарственные вещества не оказывают тотального влияния на стереотипную поведенческую триаду: антидепрессанты и противовоспалительные средства корригируют преимущественно повышенный уровень депрессивности, диазепам

влияет только на тревожность, кетамин на фоне воспаления снижает уровни депрессивности и тревожности.

6. Верапамил обнаруживает умеренную корригирующую активность в отношении всей триады исследуемых поведенческих реакций. Это косвенно отражает повышение функциональной активности потенциалозависимых кальциевых каналов в проекционных нейронах префронтальной коры при моделировании исследуемой патологии.

НАУЧНО- ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Нарушения психических процессов при соматических заболеваниях, по крайней мере, при сахарном диабете, хронических воспалительных заболеваниях и хроническом использовании глюкокортикоидов многокомпонентны, судя по моделированию этих заболеваний на крысах. Используемые в настоящее время средства патогенетической терапии и психофармакологические средства оказывают корректирующее действие на отдельные компоненты континуума психических нарушений при моделируемой патологии. Это обстоятельство требует разработки психокорригирующих средств «широкого спектра».

2. Прототипами таких средств могут быть липофильные проникающие в мозг блокаторы потенциалозависимых кальциевых каналов, судя по спектру корректирующего действия верапамила. Помимо этого, могут быть использованы быстродействующие вещества с сочетанной антидепрессивной и анксиолитической активностью.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМРА – альфа-амино-3-метил-5-изоксазолпропионовая кислота,
АНР-медленная следовая деполяризация,
ВПСП – возбуждающий постсинаптический потенциал,
ГАМК – гамма-аминомасляная кислота,
ГАМК_A рецепторы – рецепторы гамма-аминомасляной кислоты типа A,
ГГНС – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система,
ГК – глюкокортикоиды,
ГТ – гидрокситриптамиин,
Д – AP 5- Д-2-амино-5-фосфовалериановая кислота,
ДГ – дорсальный гиппокамп,
ДД – длительная депрессия синаптической передачи,
Дмз – дексаметазон,
ДП – длительная потенция синаптической передачи,
DNAХ- 6,7-динитрохиноксалин-2,3-дион,
ИЛ – интерлейкины,
ИДО- индоламин 2,3- диоксигеназа,
КВФ – кортикотропин высвобождающий фактор (CRF),
мВ – милливольт,
мкМ – микромоль,
мМ – миллимоль,
мПФК – медиальная префронтальная кора,
НМДА – N-метил-D-аспарагиновая кислота,
пВПСП – популяционный возбуждающий постсинаптический потенциал,
п/з – потенциалозависимый,
ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт,

РВМПМ – ростральный вентромедиальный отдел продолговатого мозга,
с – секунда,
СА1 – отдел гиппокампа (Cornu Ammonii),
СД 1- сахарный диабет, первый (инсулинзависимый) тип,
СД 2 – сахарный диабет, второй (инсулиннезависимый) тип,
Са КМ II – кальциймодулинзависимая протеинкиназа,
СИОЗС (Н) – селективный ингибитор обратного захвата серотонина
(норадреналина),
CREB – транскрипционный фактор,
CRF- кортикотропин релизинг фактор,
УРАИ – условнорефлекторная реакция активного избегания,
ТЦА – трициклические антидепрессанты,
ФНО – фактор некроза опухоли,
цАМФ – циклический аденозин монофосфат,
ЦОГ – циклооксигеназа,
ЦСВ – центральное серое вещество,
ЭСД – экспериментальный сахарный диабет.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамец И. И. Депрессивный синдром: нейрохимия, нейрофизиология, фармакология [Текст] / И. И. Абрамец, Д. В. Евдокимов А. Н. Талалаенко. – Германия: Palmarium Academic Press, 2014. - 304 с.
2. Абрамец, И. И. Изменения нейрофизиологических параметров передней поясной коры крыс при экспериментальном депрессивном синдроме различного генеза [Текст] / И. И. Абрамец, Д. В. Евдокимов, Т. О. Зайка // Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова. – 2016. - № 2. - С. 21-30.
3. Абрамец, И. И. Изменения релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов в прелимбической коре крыс при поведенческой депрессии [Текст] / И. И. Абрамец, Д. В. Евдокимов, Т. О. Зайка // Биомедицина. - 2016. - Т. 2. - С. 22-31.
4. Абрамец, И. И. Нейрофизиологические и нейрохимические аспекты действия антидепрессантов и стабилизаторов настроения [Текст] / И. И. Абрамец // Нейрофизиология. - 2008. - № 40, № 1. - С. 69-79.
5. Анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat. [Текст] / Ю. Е. Лях [и др.] // Український журнал телемедицини та медичної телематики . - 2006. - №5. – С. 214.
6. Аметов, А. С. Сахарный диабет и сердечно-сосудистые заболевания [Текст] / А. С. Аметов, И. О. Курочкин, А. А. Зубков // Русский медицинский журнал. - 2014. - Т. 22, № 13. - С. 958–943.
7. Власов, А. А. Влияние различного рациона питания на питьевой режим у крыс [Текст] / А. А. Власов, Д. Н. Чекменева, Г. Ю. Шаталова // Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». - 2010. - Т.12, № 6. – С. 324-325. - Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-razlichnogo-ratsiona-pitaniya-na-pitievoy-rezhim-u-krysэ>, свободный.

8. Вовлечение аномального апоптоза в нарушение синаптической пластичности при посттравматическом стрессовом расстройстве / Г. М. Мкртчян [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова. - 2013. - Т. 113, № 1. - С. 26–29.
9. Возможности фармакологической модуляции церебральной глутаматергической системы в терапии сосудистых когнитивных нарушений [Текст] / И. В. Литвиненко [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. - 2013. - Т. 113, № 9. - С. 29-35.
10. Воронина, Т. А. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ [Текст] / Т. А. Воронина, Р. У. Островская // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Москва : ИИА «Ремедиум», 2000. - С. 153–161.
11. Дедов, И. И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений [Текст] / И. И. Дедов // Сахарный диабет. - 2013. - № 3. - С. 4-10.
12. Дедов, И. И. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) [Текст] / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, Г. Р. Галстян // Сахарный диабет. - 2016. - Т. 19, № 2. - С. 104-112.
13. Десятников, В. Ф. Скрытые депрессии в практике врачей [Текст] / В. Ф. Десятников, Т. Т Сорокина. – Минск : Медицина, 1981. - 186 с.
14. Дубровина, Н. И. Взаимодействие N-метил-D-аспартатных и дофаминовых D1-рецепторов в модуляции угашения условной реакции пассивного избегания мышей с депрессивноподобным состоянием [Текст] / Н. И. Дубровина, Д. В. Зиновьева // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. - 2011. - Т. 97 № 7. - С. 700-707.

15. Дубровина, Н. И. Гамк-рецепторы в модуляции угашения памяти о страхе [Текст] / Н. И. Дубровина // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. - 2016. - Т. 66, № 2. - С. 131.
16. Живолупов, С. А. Современная концепция нейропластичности (теоретические аспекты и практическая значимость): (обзор) [Текст] / С. А. Живолупов, И. Н. Самарцев, Ф. А. Сыроежкин // Журнал неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова. - 2013. - Т. 113, № 10.- С. 102-108.
17. Жилюк, В. І. Нейрофармакологічний аналіз медикаментозного захисту головного мозку за умов експериментального цукрового діабету : автореф. дис. доктора медичних наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / В. І. Жилюк; Дніпропетр. мед. акад. МОЗ України, Ін-т фармакології та токсикології НАМН України. – Київ, 2015. – 40 с.
18. Инсульт у больных сахарным диабетом как мультидисциплинарная проблема [Текст] / В. В. Гудкова [и др.] // Consilium Medicum. - 2015. - Т. 17, № 9. - С. 27-31.
19. Калуев, А. В. Стресс, тревожность и поведение [Текст] / А. В. Калуев. – Киев : Энигма, 1998. - 93 с.
20. Колесников, А. Н. Опыт применения антагониста глутаматных NMDA-рецепторов (ПК-Мерц) при повреждениях головного мозга травматического происхождения в остром периоде (описание клинического случая) [Текст] / А. Н. Колесников [и др.] // Медицина неотложных состояний. - 2014. - № 3. - С. 101–104.
21. Копылов, Ф. Ю. Прогностическое значение психических и патохарактерологических расстройств в прогрессировании ИБС [Текст] / Ф. Ю. Копылов, В. Э. Медведев., Ю. М. Никитина // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. - 2008. - № 3. - С. 24–27.
22. Лях, Ю. Е. Математическое моделирование при решении задач классификации в биомедицине [Текст] / Ю. Е. Лях, В. Г. Гурьянов //

Український журнал телемедицини та медичної телематики. - 2012. - Т. 10, № 2. - С. 69-76.

23. Медведев, В. Э. Психопатологические и патохарактерологические характеристики пациентов с кардионеврозом (нейроциркуляторная дистония) [Текст] / В. Э. Медведев // Психические расстройства в общей медицине. - 2008. - № 2. - С. 18–21.
24. Медведев, В. Э. Психические расстройства и артериальная гипертензия [Текст] / В. Э. Медведев // Психические расстройства в общей медицине. - 2007. - № 1. - С. 33-39.
25. Минеева, О. А. Подходы к изучению механизмов геномной и синаптической пластичности в сетях нервных клеток, культивируемых на мультиэлектродных матрицах: (обзор) [Текст] / О. А. Минеева, М. С. Бурцев // Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова . - 2012. – Т. 62, № 3. - С. 1–9.
26. Минохин, К. В. Подходы к изучению механизмов геномной и синаптической пластичности в сетях нервных клеток, культивируемых на мультиэлектронных матрицах [Текст] / К. В. Минохин // Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова. - 2012. - Т. 62, № 3. — С. 261–269.
27. Митюшев, М. И. Переживающий срез мозга как объект нейрофизиологического и нейрохимического исследования [Текст] / М. И. Митюшев. - Ленинград: Наука, 1986. – 127 с.
28. Можейко, Л. А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета [Текст] / Л. А. Можейко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета . - 2013 - №3. - С. 26-29.
29. Никитин, В. П. Реконсолидация процессов амнезии, индуцируемая напоминанием: участие NMDA- и AMPA-рецепторов глутамата [Текст] / В.

- П. Никитин, С. А. Козырев, С. В. Солнцева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2015. - Т. 160, № 7.- С.4-9.
30. Новицкая-Усенко, Л. В. Два противоположных эффекта NMDA-рецепторов с точки зрения расширения диапазона фармакологической нейропротекции при острой ишемии головного мозга [Текст] / Л. В. Новицкая-Усенко, В. П. Муслин, А. А. Криштафор // Медицина неотложных состояний. - 2016. - № 1. - С. 24–29.
31. Панько, Т. В. Комплексная психотерапия тревожной депрессии [Текст] / Т. В. Панько // Український вісник психоневрології. - 2014. - Т. 22, № 3 (80). - С. 92–97.
32. Петри, А. Наглядная статистика в медицине [Текст] / А. Петри; пер. с англ. В. П. Леонова. – Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2003. - 144 с.
33. Петрова, Н. Н. Факторное значение симптомов, включаемых в диагностическое поле соматизированной депрессии [Текст] / Н. Н. Петрова, Н. П. Ванчакова // Организационные, клинические и психологические аспекты психосоматической медицины. – Санкт -Петербург, 1996. - С. 15–17.
34. Пизова, Н. В. Когнитивные нарушения при некоторых сердечно-сосудистых и соматических заболеваниях [Текст] / Н. В. Пизова // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. - 2015. - Т. 7, № 2. – С. 93–100.
35. Саркисова, К. Ю. Возрастные изменения в поведении, в содержании моноаминов, их метаболитов и в плотности d1 и d2 дофаминовых рецепторов в структурах мозга у крыс линии wag/r1j с депрессивноподобной патологией [Текст] / К. Ю. Саркисова // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. - 2014. - Т. 64, № 6. - С. 668.
36. Серков, А. Н. Взаимодействие медиальной префронтальной коры, вентрального гиппокампа и базолатеральной миндалины при выполнении условного рефлекса избегания [Текст] / А. Н. Серков, В. В. // Журнал высшей нервной деятельности - 2015. — Т. 65, № 2. — С. 230–239.

37. Смулевич, А. Б. Психокардиология [Текст] / А. Б. Смулевич, А. П. Сыркин. – Москва : Медицинское информационное агентство, 2005. – 777 с.
38. Смулевич, А. Б. Ритмы депрессии при эндогенных и соматических (дерматологических и кардиологических) заболеваниях [Текст] / А. Б. Смулевич, В. Э. Медведев, В. И. Фролова // Психические расстройства в общей медицине. - 2008. - № 1. - С. 22–25.
39. Сяткин, С. П. Дифференциальная диагностика опухолевых и воспалительных процессов в головном мозге с использованием модификации активности NMDA-рецепторов на клетках крови верапамилом и кетаминном [Текст] / С. П. Сяткин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2016. - Том 161, № 5. - С. 647–650.
40. Теоретические и практические аспекты автоматизированной информационной системы "Депрессии". Очерки биологической и медицинской информатики [Текст] / В. Н. Казаков [и др.]. - Донецк: изд-во ДонГМУ, 2001. - 160 с.
41. Триголосова, И. В. Стероид-индуцированный сахарный диабет [Текст] / И. В. Триголосова // РМЖ. - 2016. - Т. 24. - № 1. - С. 54-56.
42. Тринус, Ф. П. Нестероидные противовоспалительные средства [Текст] / Ф. П. Тринус. – Киев : Здоровья, 1975. - 240с.
43. Хлебникова, Н. Н. Уровень кортикостерона в сыворотке крови крыс при экспериментальном моделировании депрессивноподобных состояний [Текст] / Н. Н. Хлебникова, Н. А. Крупина, Е. Ю. Кушнарёва // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. - № 4. - С. 3–9.
44. Шишкина, Н. Н. Глюкокортикоидная гипотеза депрессии: история и перспективы [Текст] / Н. Н. Шишкина, Г. Т. Дыгало // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2016. - Т. 20, № 2. - С. 198–203.
45. Abbott, M. A. The insulin receptor tyrosine kinase substrate p58/53 and the insulin receptor are components of CNS synapses [Text] / M. A. Abbott, D. G.

- Wells, J. R. Fallon // *The Journal of Neuroscience*. – 1999. – Vol. 19, № 17. – P. 7300–7308.
46. Activity-dependent NMDA receptor degradation mediated by retrotranslocation and ubiquitination [Text] / A. Kato [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.- 2005.- Vol. 102, No 6.- P. 5600–5605.
 47. Akiskal, H. S. Mood disorders: epidemiology [Text] / H. S. Akiskal, D. G. Blazer; eds. B. J. Sadock, V. A. Sadock : comprehensive textbook of psichiary. – New York : Lippincott, Williams and Wilkins, 2000. –1284 p.
 48. Alvarez, D. N. Corticosterone and stress reduce synaptic potentiation in mouse hippocampal slices with mild stimulation [Text] / D. N. Alvarez // *Neuroscience*. – 2002. – Vol. 115, № 4. – P. 1119–1126.
 49. Avery, D. H. Transcranial magnetic stimulation reduces pain in patients with major depression: a sham-controlled study [Text] / D. H. Avery // *Journal of Nervous and Mental Disease*. – 2007. – Vol. 195, № 5. – P. 378–381.
 50. Baekkeskov, S. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase [Text] / S. Baekkeskov // *Nature*. – 1990. – Vol. 347, № 6289. – P. 151-156.
 51. Bair, M. J. Depression and pain comorbidity: a literature review [Text] / M. J. Bair // *Archives of Internal Medicine*. - 2003. - Vol. 163, № 20. - P. 2433-2445.
 52. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to anti-depress and treatments. [Text] / R. D. Porsolt [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. - 1978. – Vol. 47, N 4. - P. 379 -391.
 53. Black, P. H. Implications for atherosclerosis, insulin resistance, type II diabetes and metabolic syndrome X [Text] / P. H. Black // *Brain Behavior Immunity*. – 2003. – Vol. 17, № 5. – P. 350–364.
 54. Blackburn-Munro, G. Chronic pain, chronic stress and depression: coincidence or consequence? [Text] / G. Blackburn-Munro, R. E. Blackburn-Munro // *J. Neuroendocrinolgy*. – 2001. – Vol. 13, № 12. – P. 1009–1023.

55. Blendy, J. A. The role of CREB in depression and antidepressant treatment [Text] / J. A. Blendy // *Biological Psychiatry*. – 2006. - Vol. 59, № 12. - P. 1144-1150.
56. Campo, J. Citalopram treatment of pediatric recurrent abdominal pain and comorbid internalizing disorders: an exploratory study [Text] / J. Campo // *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. – 2004. – Vol. 43, № 10. – P. 1234–1242.
57. Carlsson, S. Tolerance to hexobarbital induced by short-term treatments with diazepam and tested with an EEG-threshold test in male rats [Text] (Text) / S. Carlsson // *Pharmacology and Toxicology*. - 1993. - Vol. 72. - P. 134— 138.
58. Caspi, A. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene [Text] / A. Caspi // *Science*. - 2003. - Vol. 301, № 5631. - P. 386–389.
59. Chen, B. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication [Text] / B. Chen // *Biological Psychiatry*. - 2001. - Vol. 50, № 4. - P. 260–265.
60. Chen, Z.-Y. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior [Text] / Z.-Y. Chen // *Science*. - 2006. - Vol. 314, № 5796. - P. 140–143.
61. Christie, B. R. The role of dendritic action potentials and Ca²⁺ influx in the induction of homosynaptic long-term depression in hippocampal CA1 pyramidal neurons [Text] / B. R. Christie, J. C. Magee, D. Johnston // *Learn Memory*. – 1996. – Vol. 3, № 2-3. – P. 160–169.
62. Control of Amygdala Circuits by 5-HT Neurons via 5-HT and Glutamate Cotransmission [Text] / A. Sengupta [et al.] // *The Journal of Neuroscience*. - 2017. - Vol. 37, N 7. - P. 1785–1796.
63. Davidson, R. J. Anxiety and affective style: role of prefrontal cortex and Amygdala [Text] / R. J. Davidson // *Biological Psychiatry*. – 2002. – Vol. 51. - P. 68–80.

64. Dantzer, R. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain [Text] / R. Dantzer // Nature Reviews Neuroscience. – 2008. – Vol. 9, № 1. – P. 45–46.
65. Danzer, S. C. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor induces formation of basal dendrites and axonal branching in dentate granule cells in hippocampal explant cultures [Text] / S. C. Danzer // Journal Neuroscience. – 2002. – Vol. 22, № 22. – P. 9754–9763.
66. Derosa, G. Barnidipine compared to lercanidipine in addition to losartan on endothelial damage and oxidative stress parameters in patients with hypertension and type 2 diabetes mellitus [Text] / G. Derosa // Journal of International Medical Research. – 2002. – N 6. - P. 50 -154.
67. Di Dalmazi, G. Glucocorticoids and type 2 diabetes: from physiology to pathology [Text] / G. Di Dalmazi // Nutrition and Metabolism. – 2012. – Vol. 60. – P. 525-593.
68. Di Mario, U. Electrophysiological alterations of the central nervous system in diabetes mellitus [Text] / U. Di Mario // Diabetes Metab. Rev. - 1995. - Vol. 11, № 3. - P. 259–277.
69. Drevets, W. C. A functional anatomical study of unipolar depression [Text] / W. C. Drevets // Biological Psychiatry. – 1992. – Vol. 12, № 9. – P. 3628–3641.
70. Drevets, W. C. Neuroplasticity in mood disorders [Text] / W. C. Drevets // Dialogues in Clinical Neuroscience. – 2004. – Vol. 6, № 2. – P. 199–216.
71. Drewets, J. G. Neuromodulatory effects of atrial natriuretic peptides correlate with an inhibition of adenylate cyclase but not an activation of guanylate cyclase [Text] (Text) / J. G. Drewett, R. J. Ziegler, G. J. Trachte // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1992. – Vol. 260, № 2. – P. 689–696.
72. Duivis, H. E. Differential association of somatic and cognitive symptoms of depression and anxiety with inflammation: findings from the Netherlands Study of

- Depression and Anxiety (NESDA) [Text] / H. E. Duivis // Psychoneuroendocrinology. – 2013. – Vol. 38, № 9. – P. 1573–1585.
73. Duman, C. H. Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice [Text] / C. H. Duman // Brain Research . – 2008. – Vol. 1199. – P. 148–158.
74. Duman, R. S. A neurotrophic model for stress-related mood disorders [Text] / R. S. Duman, L. M. Monteggia // Biological Psychiatry. – 2006. – Vol. 59, № 12. – P. 1116–1127.
75. Dwivedi, Y. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects [Text] / Y. Dwivedi // Archives General Psychiatry. - 2003. - Vol. 60, № 8. - P. 804- 815.
76. El Rafaey, H. Effects of antidepressants on behavioral assessment in adolescent rats [Text] / H. El Rafaey , H. S. Amri // Bahrein Med. J. – 2011. - Vol. 33, N 2. - P. 1-12.
77. Engum, A. The role of depression and anxiety in onset of diabetes in a large population-based study [Text] / A. Engum // Journal of Psychosomatic Research. – 2007. – Vol. 62, № 1. – P. 31–38.
78. Erenmemisoglu, A. Effect of some antidepressants on glycaemia and insulin levels of normoglycaemic and alloxan-induced hyperglycaemic mice [Text] / A. Erenmemisoglu // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 1999. – Vol. 51, № 6. – P. 741–743.
79. Farah, R. Calcium channel blocker effect on insulin resistance and inflammatory markers in essential hypertension patients [Text] / R. Farah // International Angiology. – 2013. - Vol. 32, N 1. - P. 85-93.
80. Fareo, U. Fluvoxamine modulates the locus coeruleus function an in vivo 2-deoxy-D-glucose study in rat [Text] / U. Fareo // Biological Psychiatry. - 1997. - Vol. 42, N 1 (Suppl.). - P. 66-67.

81. Fedele, E. An evaluation of the role of extracellular amino acids in the delayed neurodegeneration induced by quinolinic acid in the rat striatum [Text] / E. Fedele, A. C. Foster // *Neuroscience*. – 1993. – Vol. 52, № 5. – P. 911–917.
82. Ferguson, S. C. Cognitive ability and brain structure in type 1 diabetes: relation to microangiopathy and preceding severe hypoglycemia [Text] / S. C. Ferguson // *Diabetes*. – 2003. – Vol. 52, № 1. – P. 149–156.
83. Fields, H. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits [Text] / H. Fields, M. M. Heinricher, P. Mason // *Annu. Rev. Neurosci.* – 1991. – Vol. 14. – P. 219–245.
84. Fields, H. Pain modulation: expectation, opioid analgesia and virtual pain [Text] / H. Fields // *Progress in Brain Research*. – 2000. – Vol. 122. – P. 245–253.
85. Fields, H. State-dependent opioid control of pain [Text] / H. Fields // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2004. – Vol. 5, № 7. – P. 565–575.
86. Föcking, M. Chronic glucocorticoid receptor activation impairs CREB transcriptional activity in clonal neurons [Text] / M. Föcking, I. Hölker, T. Trapp // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2003. – Vol. 304, № 4. – P. 720–723.
87. Frank, M. G. The permissive role of glucocorticoids in neuroinflammatory priming: mechanisms and insights [Text] / M. G. Frank, L. R. Watkins, S. F. Maier // *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. – 2015. – Vol. 22, № 4. – P. 300–305.
88. Franklin, T. B. Sex and ovarian steroids modulate brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in rat hippocampus under stressful and non-stressful conditions [Text] / T. B. Franklin, T. S. Perrot-Sinal // *Psychoneuroendocrinology*. – 2006. – Vol. 31, № 1. – P. 38–48.
89. Gameroff, M. J. Major depressive disorder, somatic pain, and health care costs in an urban primary care practice [Text] / M. J. Gameroff, M. Olfson // *Journal of Clinical Psychiatry*. – 2006. – Vol. 67, № 8. – P. 1232–1239.

90. Gardoni, M. Distribution of interleukin-1 receptor complex at the synaptic site [Text] / M. Gardoni // J. Neuroinflammation. - 2011. - Vol. 8, No 1. - P. 14.
91. Gardoni, F. Effects of streptozotocin-diabetes on the hippocampal NMDA receptor complex in rats [Text] / F. Gardoni, A. Kamal, C. Bellone // Journal of Neurochemistry . – 2002. - Vol. 80, No. 3. - P. 438 – 447.
92. Genetic basis of endocrine pathology [Text] / T.V. Sorokman [et al.] // Международный эндокринологический журнал. - 2017. -Т. 13. - № 4. - С. 249-256.
93. Giesecke T. The relationship between depression, clinical pain, and experimental pain in a chronic pain cohort [Text] / T. Giesecke // Arthritis Rheum. - 2005. - Vol. 52, № 5. - P. 1577–1584.
94. Gomes J. A. Glucocorticoid therapy in neurologic critical care [Text] / J. A. Gomes, R. D. Stevens, J. J. Levin. // Critical Care Medicine. - 2005. - Vol. 33, No 6. - P. 1214 – 1224.
95. Gorski J. A. Brain-derived neurotrophic factor is required for the maintenance of cortical dendrites [Text] / J. A. Gorski // Journal of Neuroscience . – 2003. – Vol. 23, № 17. – P. 6856–6865.
96. Grigsby A. B. Prevalence of anxiety in adults with diabetes: a systematic review [Text] / A. B. Grigsby // Journal of Psychosomatic Research. – 2002. – Vol. 53, № 6. – P. 1053–1060.
97. Hafezi-Moghadam A. Acute cardiovascular protective effect of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase [Text] / A. Hafezi-Moghadam, T. Simoncini, Z. Yang // Nature Medicine. - 2002. - Vol. 8, No 5. - P. 473 – 479.
98. Harro, J. Depression as a spreading adjustment disorder of monoaminergic neurons: a case for primary implication of the locus coeruleus [Text] / J. Harro, L. Oreland // Brain Research Reviews. - 2001. - Vol. 38, № 1-2. - P. 79–128.

99. Hartley A. E. Changing fear: the neurocircuitry of emotion regulation [Text] / A. E. Hartley, A. Phelps // *Neuropsychopharmacology*. – 2010. - Vol. 35, No 1. - P. 136 – 146.
100. Hellweg, R. Endogenous levels of nerve growth factor (NGF) are altered in experimental diabetes mellitus: a possible role for NGF in the pathogenesis of diabetic neuropathy [Text] / R. Hellweg, H. D. Hartung // *Journal of Neuroscience Research*. - 1990. - Vol. 26, № 2. - P. 258–267.
101. Hestrin, R. A. Analysis of excitatory synaptic action in pyramidal cells using whole-cell recording from rat hippocampal slices [Text] / R. A. Hestrin, D. J. Nicoll, P. Perkel // *The Journal of Physiology*. – 1990. - Vol. 422, No 2. – P. 203 – 225.
102. Huang, C. C. An investigation into signal transduction mechanisms involved in insulin-induced long-term depression in the CA1 region of the hippocampus [Text] / C. C. Huang, K. S. Lee Hsu // *J. Neurochemistry*. – 2004. - Vol. 89, No. 1. – P. 217 – 231.
103. Izumi, I. Zinc modulates bidirectional hippocampal plasticity by effects on the NMDA receptors [Text] / I. Izumi, Y. P. Auberson, C. F. Zorumski // *Journal of Neuroscience*. - 2006. - Vol. 26, No 27. - P. 7181 – 7188.
104. Jang, S. S. Regulation of STEP61 and tyrosine-phosphorylation of NMDA and AMPA receptors during homeostatic synaptic plasticity [Text] / S. S. Jang // *Molecular Brain Research*. – 2015. – Vol. 8, № 1. – P. 55.
105. Jann, M. W. Antidepressant agents for the treatment of chronic pain and depression [Text] / M. W. Jann // *Pharmacotherapy*. – 2007. – Vol. 27, № 11. – P. 1571–1587.
106. Jiang, E. R. Activation of locus coeruleus enhances the responses of olfactory bulb mitral cells to weak olfactory nerve input [Text] / E. R. Jiang // *Journal of Neuroscience*. - 1999. - Vol. 16, No 22. – P. 6319 – 6329.

107. Ji, G. Pain-related anxiety-like behavior requires CRF1 receptors in the amygdala [Text] / G. Ji // Mol. Pain. – 2007. – Vol. 3. – P. 13.
108. Jin, X. The psychometric properties of the Cognitive-Somatic Anxiety Questionnaire in Chinese undergraduate students and clinical patients [Text] / X. Jin // Comprehensive Psychiatry. – 2014. – Vol. 55, № 7. – P. 1751–1756.
109. Zarate, Jr. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression [Text] / Jr. Zarate // Arch. Gen. Psychiatry. – 2006. – Vol. 63, № 8. – P. 856–864.
110. Kathol, R. G. Relationship of depression to medical illness. A critical review [Text] / R. G. Kathol, F. Petty // Journal of Affective Disorders. – 1981. – Vol. 3, № 2. – P. 111–121.
111. Katon, W. Predictors of nonresponse to treatment in primary care patients with dysthymia [Text] / W. Katon // General Hospital Psychiatry. – 2002. – Vol. 24, № 1. – P. 20-27.
112. Kerr, D. S. Hippocampal glucocorticoid receptor activation enhances voltage-dependent Ca²⁺ conductances: relevance to brain aging [Text] / D. S. Kerr // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. - 1992. - Vol. 89, № 18. - P. 8527-8531.
113. Ketamine-induced changes in rat behaviour: A possible animal model of schizophrenia [Text] / A. Becker [et al.] // Progr. 166. Neuropsychopharmacol. Biol. Psych. - 2003. - Vol. 27, N 4. - P. 687-700.
114. Khoza, S. Glucose dysregulation associated with antidepressant agents: an analysis of 17 published case reports [Text] / S. Khoza, J. C. Barner // International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology – 2011. – Vol. 33, № 3. – P. 484–492.
115. Kiecolt-Glaser, J. K. Depression and immune function: central pathways to morbidity and mortality [Text] / J. K. Kiecolt-Glaser, R. Glaser // J. Psychosomatic Research. – 2002. – Vol. 53, № 4. – P. 873–876.

116. Leung, D. Y. Disease management of atopic dermatitis: a practice parameter [Text] / D. Y. Leung, J. M. Hanifin, E. N. Charlesworth // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* - 1997. - Vol. 79, No 3. - P. 197 – 211.
117. Lin, A. Nedd4-mediated AMPA receptor ubiquitination regulates receptor turnover and trafficking [Text] / A. Lin, Q. Hou, L. Jarzylo // *J. Neurochemistry.* - 2011. - Vol. 119, No 1. - P. 27–39.
118. Lin, Y. Participation of brainstem monoaminergic nuclei in behavioral depression [Text] / Y. Lin // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* – 2011. – Vol. 100, № 2. – P. 330–339.
119. Lu, V. B. Neuron type-specific effects of brain-derived neurotrophic factor in rat superficial dorsal horn and their relevance to 'central sensitization' [Text] / V. B. Lu // *J. Physiology.* – 2007. – Vol. 584, pt. 2. – P. 543–563.
120. Lustman, P. J. Depression and poor glycemic control: a meta-analytic review of the literature [Text] / P. J. Lustman // *Diabetes Care.* – 2000. – Vol. 23, № 7. – P. 934–942.
121. Ma, J. Chronic brain inflammation causes a reduction in GluN2A and GluN2B subunits of NMDA receptors and an increase in the phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in the hippocampus [Text] / J. Ma // *Molecular Brain Research* . - 2014. – Vol. 7. – P. 33.
122. Mah, L. Regional cerebral glucose metabolic abnormalities in bipolar II depression [Text] / L. Mah // *Biological Psychiatry.* – 2007. – Vol. 61, № 6. – P. 765–775.
123. Mäkimattila, S. Brain metabolic alterations in patients with type 1 diabetes-hyperglycemia-induced injury [Text] / S. Mäkimattila // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2004. – Vol. 24, № 12. – P. 1393–1399.
124. Mao, L. M. Tyrosine phosphorylation of glutamate receptors by non-receptor tyrosine kinases: roles in depression-like behavior [Text] / L. M. Mao, J. Q. Wang // *Neurotransmitter (Houst).* – 2016. – Vol. 3. – P. e1118.

125. McBeth, J. Does chronic pain predict future psychological distress? [Text] / J. McBeth, G. J. Macfarlane, A. J. Silman // Pain. – 2002. – Vol. 96, № 3. – P. 239–245.
126. McEwen, B. S. Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load [Text] / B. S. McEwen // Annals of the New York Academy of SciencesAnn. – 1998. – Vol. 840. – P. 33–44.
127. Moskvina, V. Interrelationship of childhood trauma, neuroticism, and depressive phenotype [Text] / V. Moskvina // Depression and Anxiety. – 2007. – Vol. 24, № 3. – P. 163–168.
128. Muller, N. The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression [Text] / N. Muller, M. J. Schwarz // Molecular Psychiatry. - 2007. - Vol. 12, № 10. - P. 988-1000.
129. Müller-Tasch, T. Depression is a major determinant of quality of life in patients with chronic systolic heart failure in general practice [Text] / T. Müller-Tasch // J. Cardiac Failure. – 2007. – Vol. 13, № 10. – P. 818–824.
130. Myint, A. M. Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection [Text] / A. M. Myint // Journal of Affective Disorders. - 2007. – Vol. 98, № 2. – P. 143–151.
131. Nestler, E. J. Neurobiology of depression [Text] / E. J. Nestler // Neuron. – 2002. – Vol. 34, № 1. – P. 13–25.
132. Neugebauer, V. The amygdala and persistent pain [Text] / V. Neugebauer // Neuroscientist. – 2004. – Vol. 10, № 3. – P. 221–234.
133. Nibuya, M. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments [Text] / M. Nibuya, S. Morinobu, R. Duman // J. Neuroscience . – 1995. – Vol. 15, № 11. – P. 7539–7547.
134. Nicolaides, N. C. Stress, the stress system and the role of glucocorticoids [Text] / N. C. Nicolaides // Neuroimmunomodulation. – 2015. – Vol. 22, № 1-2. – P. 6–19.

135. Olver, J. S. Depression and physical illness [Text] / J. S. Olver, M. J. Hopwood // Medical Journal of Australia. – 2013. – Vol. 199, № 6 (suppl.). – P. 9–12.
136. Öztürk, A. Investigation of facial emotion recognition, alexithymia, and levels of anxiety and depression in patients with somatic symptoms and related disorders [Text] / A. Öztürk // Neuropsychiatric Disease and Treatment. – 2016. – Vol. 12. – P. 1047–1053.
137. Perahia, D. G. Efficacy of duloxetine in painful symptoms: an analgesic or antidepressant effect [Text] / D. G. Perahia // International Clinical Psychopharmacology. – 2006. – Vol. 21, № 6. – P. 311–317.
138. Price, J. L. Neurocircuitry of mood disorders [Text] / J. L. Price, W. C. Drevets // Neuropsychopharmacology. – 2010. – Vol. 35, № 1. – P. 192–216.
139. Rainsford K. D., Effect of meloxicam compared with other NSAIDs on cartilage [Text] / K. D. Rainsford, C. Ying, F. C. Smith // J. Pharmacy and Pharmacology. – 1997. - Vol .49, No 10. - P. 991 – 998.
140. Reichenberg, A. Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans [Text] / A. Reichenberg // Archives of General Psychiatry. – 2001. – Vol. 58, № 3. – P. 445–452.
141. Revsin, Y. Glucocorticoid receptor blockade normalizes hippocampal alterations and cognitive impairment in streptozotocin-induced type 1 diabetes mice [Text] / Y. Revsin // Neuropsychopharmacology. – 2009. – Vol. 34, № 3. – P. 747–758.
142. Rhen, T. Antiinflammatory action of glucocorticoids – new mechanisms for old drugs [Text] / T. Rhen, J. A. Cidlowski // New England Journal of Medicine. - 2005. - Vol. 353, No 16. - P. 1711 – 1723.
143. Richardson-Jones, J. Strotonin-1A autoreceptors are necessary and sufficient for the normal formation of circuits underlying innate anxiety [Text] / J. Richardson-Jones, W C. P. Craig, T. H. Nguyen // Journal of Neuroscience . - 2011. - No 16. - P. 6008 – 6018.

144. Rosenberg, C. Citalopram versus amitriptyline in elderly depressed patients with or without mild cognitive dysfunction: a Danish multicentre trial in general practice [Text] / C. Rosenberg // *Psychopharmacol. Bull.* – 2007. – Vol. 40, № 11. – P. 63–73.
145. Rupniak, N. M. Elucidating the antidepressant actions of substance P (NK1 receptor) antagonists [Text] / N. M. Rupniak // *Pharmacotherapy.* - 2001. - Vol. 21, № 9. – P. 1061-1069.
146. Ryan, C. M. Cognitive efficiency declines over time in adults with type 1 diabetes: effects of micro- and macrovascular complications [Text] / C. M. Ryan, M. O. Geckle, T. J. Orchard // *Diabetologia.* – 2003. – Vol. 46, № 7. – P. 940–948.
147. Schneider, F. Cerebral blood flow changes in limbic regions induced by unsolvable anagram tasks [Text] / F. Schneider // *American Journal of Psychiatry.* – 1996. – Vol. 153, № 2. – P. 206-212.
148. Serretti, A. Antidepressants and body weight: a comprehensive review and meta-analysis [Text] / A. Serretti, L. Mandelli // *Journal of Clinical Psychiatry.* – 2010. – Vol. 71, № 10. – P. 1259–1272.
149. Shapiro, P. A. Heart disease: textbook of psychosomatic medicine (text) / P. A. Shapiro. - Washington, London: American Psychiatric Publishing, 2005. – 1115 p.
150. Sharma, A. N. GLP-1 receptor agonist liraglutide reverses long-term atypical antipsychotic treatment associated behavioral depression and metabolic abnormalities in rats [Text] / A. N. Sharma // *Metabolic Brain Disease.* – 2015. – Vol. 30, № 2. – P. 519–527.
151. Shurtz-Swirski, R. The effect of calcium channel blocker lercanidipine on lowgrade inflammation parameters in essential hypertension patients [Text] / R. Shurtz-Swirski, R. Farah, S. Sela // *Harefuah.* - 2006. - Vol. 45, N 12. - P. 895-899.
152. Stahl, S. Understanding pain in depression (text) / S. Stahl, M. Briley // *Journal of Psychopharmacology.* – 2004. – Vol. 19, suppl. 1. – P. 9–13.

153. Storage of Spatial Information by the Maintenance Mechanism of LTP [Text] / E. Pastalkova [et al.] // *Science*. – 2006. – Vol. 313. - P.1141-1144.
154. Strik, J. J. One year cumulative incidence of depression following myocardial infarction and impact on cardiac outcome [Text] / J. J. Strik // *J. Psychosom. Res.* — 2004. — Vol. 56, № 1. — P. 59–66.
155. Sun, J. M-type potassium channels modulate Schaffer collateral-CA1 glutamatergic synaptic transmission [Text] / J. Sun, J. Kapur // *Journal of Physiology*– 2012. – Vol. 590, № 16. – P. 3953–3964.
156. Talley, N. J. Antidepressant therapy (imipramine and citalopram) for irritable bowel syndrome: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial [Text] / N. J. Talley // *Digestive Diseases and Sciences*. - 2008. - Vol. 53, № 11. - P. 108–115.
157. Tankredi, M. The inhibitory effects of interleukin-6 on synaptic plasticity in the rat hippocampus are associated with an inhibition of mitogen-activated protein kinase ERK [Text] / Tankredi, M. D'Antuono, C. Café // *Journal of Neurochemistry*. – 2000. - Vol. 75, No 2. – P. 634- 643.
158. Tardito, D. Signaling pathways regulating gene expression, neuroplasticity, and neurotrophic mechanisms in the action of antidepressants: a critical overview [Text] / D. Tardito // *Pharmacological Reviews*. – 2006. – Vol. 58, № 1. – P. 115–134.
159. Tata, D. A. Synapse loss from chronically elevated glucocorticoids: relationship to neuropil volume and cell number in hippocampal area CA3 [Text] / D. A. Tata, V. A. Marciano, B. J. Anderson // *The Journal of Comparative Neurology*. - 2006. - Vol. 498, № 3. – P. 363–374.
160. Tian, G. F. Protective effect of high glucose against ischemia-induced synaptic transmission damage in rat hippocampal slices [Text] / G. F. Tian, A. J. Baker // *Journal of Neurophysiology*. – 2002. – Vol. 88, № 1. – P. 236–248.

161. Trudeau, F. Hippocampal synaptic plasticity and glutamate receptor regulation: influences of diabetes mellitus [Text] / F. Trudeau, S. Gagnon, G. Massicotte // European Journal of Pharmacology. – 2004. – Vol. 490, № 1-3. – P. 177–186.
162. Umukoro, R. B. Ashorobi E. E. Anticonvulsant and Anxiolytic Effects of Calcium Channel Blockers in Mice [Text] / R. B. Umukoro, E. E. Ashorobi // Journal of Medical Science 2006. - Vol. 6, N 5. – P. 1021-1024.
163. Vezzani, A. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability [Text] / A. Vezzani // Neuropharmacology. – 2015. – Vol. 96. – P. 70–82.
164. Viviani, S. Gardoni Interleukin-1 beta enhances NMDA receptor-mediated $[Ca^{2+}]_i$ increase and neurotoxicity [Text] / S. Viviani, S. Bartesaghi, F. Gardoni // J. Neurosci. – 2003. Vol. 23, No 25. – P. 8692 – 8700.
165. Wang, L. Sertraline plus deanxit to treat patients with depression and anxiety in chronic somatic diseases: a randomized controlled trial [Text] / L. Wang // BMC Psychiatry. – 2015. – Vol. 15. – P. 84.
166. Warner-Schmidt, J. L. VEGF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants [Text] / J. L. Warner-Schmidt, R. S. Duman // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2007. – Vol. 104, № 11. – P. 4647–4652.
167. Xu, L. Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus [Text] / L. Xu, R. Anwyl, M. J. Rowan // Nature. – 1997. – Vol. 387, № 6632. – P. 497–500.
168. Yang, Z.-W. Interleukin-1 β enhances NMDA receptor-mediated current but inhibits excitatory synaptic transmission [Text] / Z.-W. Yang, L. Liu // Brain Research. - 2005. - Vol.1034, No 1–2. – P. 172 – 179.
169. Zakrutnyi, R. D. The effect of diacamp hydrochloride on the cortisol content in the blood of rats with diabetes mellitus modelled against the immobilization stress background [Text] / R. D. Zakrutnyi, Yu. Shtrygol' S., S. I. Merzlikin // Клінічна фармація. - 2014. - № 3. - С. 32-34.

170. Zhang, S. Methamphetamine modulates glutamatergic synaptic transmission in rat primary cultured hippocampal neurons [Text] / S. Zhang // Brain Research. – 2014. – Vol. 25, № 1582. – P. 1-11.
171. Zhang R. X. IL-1ra alleviates inflammatory hyperalgesia through pre [Text] / R. X. Zhang, A. Li, B. Liu // Pain. – 2007. - Vol. 135, No 3. – P. 232 – 239.