ГОСУДАРСТВЕННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

На правах рукописи

Зайка Тамара Олеговна

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И ЕЕ СВЯЗИ С АНТИДЕПРЕССИВНЫМ ДЕЙСТВИЕМ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА И ОКСИНДОЛА

14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология»

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Абрамец Игорь Игоревич

Донецк — 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение 5

Глава 1. Вызываемые стрессом и воспалением повреждения лимбических структур мозга как факторы, провоцирующие и утяжеляющие депрессивный синдром (Обзор литературы) 16

1.1 Влияние стресса на структуры и функции мозга 16

1.2 Влияние воспаления на структуры и функции мозга 40

Глава 2. Материалы и методы 53

2.1 Поведенческие исследования 53

2.2 Исследования уровня депрессивности. 54

2.3 Исследование нарушений системы вознаграждения 55

2.4 Электрофизиологические исследования 55

2.4.1 Приготовление срезов. 56

2.4.2 Регистрация электрической активности нейронов. 58

2.4.3. Моделирование повреждений пирамидных нейронов гиппокампа 63

2.5 Моделирование экспериментального депрессивного синдрома 64

2.5.1 Моделирование вызванного неизбегаемым плавательным стрессом депрессивного синдрома 64

2.5.2 Моделирование вызванного хроническим воспалением депрессивного синдрома. 65

2.5.3 Моделирование вызванной введением резерпина поведенческой депрессии 65

2.6 Используемые фармакологические вещества 66

2.7 Статистическая обработка результатов 67

Глава 3. Исследования спектров церебропротективной активности изучаемых веществ. 68

3.1 Исследования церебропротективной активности диакамфа 70

3.2 Исследования церебропротективной активности соединения R-86 74

3.3 Исследования церебропротективной активности позитивных референтных препаратов пирацетама и кетамина. 77

3.4 Исследования влияния негативного референтного препарата дексаметазона на повреждения нейронов используемыми процедурами 83

Глава 4. Функциональные нарушения активности нейронов медиальной префронтальной коры крыс при моделировании депрессивного фенотипа поведения и их изменения под действием исследуемых веществ. 86

4.1 Функциональные нарушения в прелимбической коре при депрессивном синдроме 87

4.2 Функциональные нарушения в передней поясной коре при депрессивном синдроме 93

4.3 Влияние имипрамина и диакамфа на вызываемые хроническим воспалением и действием резерпина функциональные нарушения активности проекционных пирамидных нейронов прелимбической коры 98

4.4 Влияние амитриптилина и соединения R-86 на вызываемые хроническим воспалением и действием резерпина функциональные нарушения активности пирамидных нейронов II/III слоев передней поясной коры 102

Глава 5. Влияния исследуемых веществ на течение вызванной хроническим неизбегаемым плавательным стрессом поведенческой депрессии 106

5.1 Влияние антидепрессантов на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы. 108

5.2 Влияние веществ с церебропротективной активностью на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы. 111

5.3 Исследования влияния веществ с церебропротективной активностью на эффекты антидепрессантов. 120

Глава 6. Влияния исследуемых веществ на течение вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии 128

6.1 Влияние антидепрессантов на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы. 130

6.2 Влияние веществ с церебропротективной активностью на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы. 133

6.3 Исследования влияния веществ с церебропротективной активностью на эффекты антидепрессантов. 139

Глава 7. Обсуждение результатов 147

7.1 Выводы 175

7.2 Научно-практические рекомендации 176

Список сокращений и условных обозначений 178

Список литературы 181

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы:

Депрессивные расстройства являются одной из важнейших проблем мирового здравоохранения. Так, в США около 10 % взрослого населения страдают большой депрессией и каждый второй человек на протяжении своей жизни испытывал хотя бы один депрессивный эпизод. Экономические издержки в мире, связанные с проблемой депрессии, к 2016 году составили по данным ВОЗ 210 млрд долларов США. По информации экспертов из Национального медицинского центра психиатрии и наркологии имени В. П. Сербского в РФ чаще всего страдают депрессией жители Сибирского федерального округа – 96,6 случаев заболеваемости на 100 тысяч населения. Наиболее низкий показатель заболеваемости депрессией зафиксирован на Северном Кавказе – 34,9 на 100 тысяч населения. При этом число незарегистрированных больных может в 3 – 4 раза превышать данные официальной статистики. За пятилетний промежуток с 2012 по 2016 год заболеваемость депрессией в РФ сократилась на 8,5 %, [18, 90]. Данные о экономических издержках в РФ, связанных с депрессией, в доступной литературе отсутствуют.

Результаты лечения депрессивных расстройств оставляют желать лучшего. Использование различных методов лечения – фармакотерапии, психотерапии, электроконвульсивной терапии, глубокой стимуляции мозга приводит к появлению ремиссии у 50 – 70 % больных [145]. Основная причина низкой эффективности лечения депрессии – отсутствие четких представлений о патогенезе данного заболевания. Ситуация осложняется еще тем, что депрессия является континуумом ряда синдромов, т. е. отнюдь не однородное заболевание [108].

Открытие первых антидепрессантов в 50-е годы прошедшего столетия было случайным, а не целенаправленным процессом. Тем не менее, в связи с появлением первых антидепрессантов была разработана моноаминергическая гипотеза патогенеза депрессии [180]. Несомненно, эта гипотеза сыграла огромную роль в лечении депрессии. Но у моноаминергических антидепрессантов, даже высокоселективных, есть два существенных недостатка. Во-первых, медленное в течение нескольких недель или даже месяцев развитие тимолептического и психостимулирующего действия. Во-вторых, как минимум 1/3 больных не реагирует на традиционные антидепрессанты. Все это указывает на то, что нарушения моноаминергических механизмов мозга при депрессивных расстройствах являются вторичными (более дистальными) по отношению к первичному механизму, сбои в работе которого приводят к этим нарушениям [74, 117].

В последнее десятилетие все большую популярность приобретает сетевая нейропластическая гипотеза депрессивных расстройств. В соответствии с этой гипотезой в основе депрессии лежит атрофия нейронных ансамблей в кортикальных и лимбических структурах мозга, которые контролируют эмоции и настроение [74, 179]. Параллельное воздействие на эти нейронные ансамбли множества повреждающих факторов, порождаемых депрессией, вызывает уменьшение объема или даже гибель нейронов, упрощение их дендритного дерева, уменьшение количества дендритных шипиков и синаптических контактов. Это, в свою очередь приводит к нарушению нормальных полноценных связей между лимбическими структурами, приводящему к развитию депрессивных симптомов – патологически сниженному настроению, беспомощности и отчаянию, ангедонии, суицидальным идеям, нарушениям сна, аппетита и др. [10, 110].

В прижизненных исследованиях мозга больных депрессией с помощью магнитно-резонансной спектроскопии выявлено уменьшение объема префронтальной коры и гиппокампа, которое сопровождается ослаблением

нисходящего контроля активности прилежащего ядра, миндалевидного комплекса, латеральной уздечки – структур, формирующих страх, тревогу, настроение [106]. В исследованиях на животных с поведенческой депрессией, вызванной воздействием хронического стресса, выявлено уменьшение объема пирамидных нейронов медиальной префронтальной коры, уменьшением размера дендритов, снижением количества и угнетением функций глутаматергических синапсов; аналогичные изменения обнаружены в области CA3 гиппокампа [127, 143, 185]. Таким образом, эти исследования на людях и грызунах демонстрируют, что депрессию можно рассматривать, как умеренную нейродегенеративную болезнь, и лечение должно быть направлено на восстановление функций нейронных ансамблей, нарушенных атрофическими процессами [133].

В связи с вышеизложенным, очевидным становится новый подход к лечению депрессивных расстройств, а именно, как к нейроатрофическому заболеванию. Интересно, что классические нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Паркинсона, хорея Геттингтона, рассеянный склероз и др. сопровождаются развитием депрессивного синдрома [8]. Обязательным в лечении нейродегенеративных заболеваний, наряду со средствами специфической терапии, является использование средств с нейротрофическим и нейрометаболическим действием, таких как блокаторы N-метил-D-аспартат (НМДА) глутаматных рецепторов, предотвращающие эксайтотоксические повреждения нейронов, средства с нейротрофическим действием типа церебролизина, стимулирующие репаративные процессы, средства с нейрометаболическим действием типа ноотропов, стимулирующих обменные процессы в мозге [12, 17].

Степень разработанности проблемы:

Используемые в настоящее время антидепрессанты, относящиеся к различным функциональным классам, обладают умеренным церебропротективным, нейротрофическим и репаративным действием [1, 3, 4].

Тем не менее, их терапевтический потенциал не достаточен, на что указывает отсутствие терапевтической эффективности у ~ 1/3 больных депрессией. Для лечения резистентных к классическим антидепрессантам форм депрессии используют препараты не являющиеся истинными антидепрессантами, в частности, общий анестетик неселективный неконкурентный блокатор НМДА глутаматных рецепторов кетамин в субанестетических дозах [46, 83]. Антидепрессивную активность кетамина при резистентных к антидепрессантам формах депрессии связывают с рядом эффектов. Прежде всего, кетамин блокирует НМДА глутаматные рецепторы в мембранах ГАМКергических интернейронов лимбических структур и дезингибирует глутаматные нейроны, в первую очередь пирамидные, за счет усиления пресинаптического высвобождения медиатора и более интенсивной активации постсинаптических α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA) глутаматных рецепторов. Это приводит к деполяризации мембран нейронов, активации потенциалозависимых кальциевых каналов L-типа и усилению поступления Ca2+ в цитоплазму нейронов [120, 132]. Далее, в постсинаптических нейронах деполяризация мембран и кальциевые транзиенты усиливают высвобождение нейротрофина - нейротропный фактор мозга (англ. brain-derived neurotrophic factor), белок человека, кодируемый геном BDNF. BDNF активирует сигнальный путь чувствительной к антибиотику рапамицину протеинкиназы mTORC1, который регулирует процесс трансляции белков и синаптическую пластичность [123]. Активность протеинкиназы mTORC1 существенно нарушена при воздействии хронического стресса и депрессии. После системного введения кетамина в пределах десятка минут увеличивается тирозинкиназное фосфорилирование mTORC1 в префронтальной коре и поведенческие эффекты кетамина предотвращаются селективным ингибитором mTORC1 рапамицином [111, 123].

В тоже время, классические антидепрессанты только при хроническом введении повышают уровень BDNF и других нейротрофинов в мозге, благодаря

активации сигнального пути цАМФ – протеинкиназа А – митогенактивируемые протеинкиназы – фактор транскрипции CREB, в результате чего происходит незначительное увеличение числа дендритных шипиков и синаптической передачи. Существенно, что антидепрессанты не вызывают вспышечной активности глутаматергических нейронов, необходимой для зависимого от нейрональной активности высвобождения BDNF. Их действие ограничивается только повышением уровней нейроторфинов, а этого недостаточно для лечения резистентных форм депрессии.

Таким образом, в лечении депрессии вырисовывается новое направление, суть которого сводится к устранению синаптического дефицита и усилению синаптической пластичности, нарушенных хроническим стрессом или депрессией, а не к дальнейшему совершенствованию веществ, повышающих уровни моноаминов в мозге [10, 20, 23, 63]. Но применение наиболее изученного представителя этого направления кетамина в клинических условиях ограничено его негативными побочными эффектами. Что касается других фармакологических веществ, влияющих на высвобождение нейротрофинов и на оптимизацию нарушенной синаптической пластичности, то к настоящему времени они проходят доклинические или, в лучшем случае, начальные фазы клинических исследований.

Одним из реально реализуемых в настоящее время способов лечения резистентных форм депрессии является усиление (аугментация) действия типичных антидепрессантов другими веществами, не относящимися в эту группу психофармакологических средств. Эмпирически подобраны комбинации антидепрессантов, наиболее часто селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, с препаратами лития, вальпроатами, некоторыми атипичными антипсихотиками – блокаторами Д3 и/или Д4 дофаминовых рецепторов. Важно, что, все члены указанной комбинации обладают достаточным церебропротективным действием [58]. С другой стороны, в литературе имеются немногочисленные данные (но не на уровне доказательной медицины) о том, что

нейрометаболический церебропротектор пирацетам улучшает течение депрессивных расстройств [18]. Именно эти обстоятельства определили цели и задачи этой работы.

Цель исследования:

Изучить спектры цребропротективной активности диакамфа и соединения R-86 и выяснить наличие у них антидепрессивного действием и связи между цереборпротективной активностью и их антидепрессивным действием на двух разновидностях поведенческой депрессии.

Задачи исследования:

1. В исследованиях на срезах гиппокампа крыс с помощью электрофизиологических методов оценить спектры церебропротективной активности диакамфа гидрохлорида, соединения R-86 и препаратов сравнения по их способности противодействовать повреждениям пирамидных нейронов, вызываемых эксайтотоксическим действием, оксидативным стрессом и аноксией/нейроагликемией.

2. Выявить влияние диакамфа, соединения R-86, имипрамина и амитриптилина на функциональные нарушения в пирамидных нейронах поверхностных и глубоких слоев префронтальной коры при моделировании поведенческой депрессии разного генеза..

3. Изучить влияние хронически вводимых диакамфа, соединения R-86, препаратов сравнения и антидепрессантов на основные проявления вызванной хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии у крыс.

4. Исследовать влияние хронически вводимых диакамфа, соединения R-86, препаратов сравнения и антидепрессантов на основные проявления вызванной хроническим воспалением мягких тканей спины поведенческой депрессии у крыс.

5. Выявить влияние диакамфа и соединения R-86 на антидепрессивное действие имипрамина, амитриптилина и кетамина при двух различных формах поведенческой депрессии.

6. Проанализировать функциональную связь между церебропротективным и антидепрессивным действием диакамфа, соединения R-86 и других исследуемых веществ.

Научная новизна исследования:

Впервые изучены спектры церебропротективного действия диакамфа и соединения R-86 на нейрональном уровне при различных повреждающих воздействиях – глутаматной нейротоксичности, аноксии и оксидативном стрессе. Впервые установлено, что вызываемые депрессогенными воздействиями повреждения пирамидных нейронов поверхностных и глубоких слоев прелимбической и передней поясной коры ослабляются диакамфом, соединением R-86 и антидепрессантами. Впервые показано, что обладающие церебропротективной активностью диакамф и соединение R-86 при хроническом введении крысам оказывают выраженное возрастающее со временем антидепрессивное действие при поведенческой депрессии, вызванной плавательным стрессом и хроническим воспалением. Впервые выяснено, что антидепрессивное действие диакамфа и соединения R-86 определяется их антиоксидативным и антиэксайтотоксическим действием; антианоксическое действие исследуемых веществ не играет роли в их антидепрессивном действии.

Теоретическая и практическая значимость работы:

В данном исследовании разработаны представления о том, что обладающие церебропротективной активностью лекарственные и фармакологические вещества улучшают функциональное состояние мозга и предотвращают или обращают вызываемые хроническим стрессом и воспалением функциональные повреждения лимбических структур мозга. Это определяет их антидепрессивное действие при моделировании поведенческой депрессии различного генеза. С другой стороны, выявление того, что пирацетам и соединение R-86 потенцируют оптимизирующее поведение действие

антидепрессантов в экспериментальных условиях позволяет рекомендовать вещества с церебропротективной активностью для усиления действия антидепрессантов при лечении резистентных форм депрессии. Способность соединения R-86 проявлять при хроническом введении собственную антидепрессивую активность и усиливать действие антидепрессантов свидетельствует о возможности и перспективности разработки на его основе лекарственного вещества для потенцирования действия традиционных препаратов. Препараты типа диакамфа, которые не всегда усиливают действия антидепрессантов, могут быть рекомендованы для пролонгирования продолжительности ремиссии при депрессии.

Результаты проведенного исследования включены в материалы лекций и практических занятий для студентов и курсантов на кафедрах фармакологии и клинической фармакологии, неврологии и медицинской генетики; психиатрии, наркологии и медицинской психологии; психиатрии, психотерапии, медицинской психологии и наркологии, нормальной и патологической физиологии ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО. Методические подходы к поиску, доклиническому фармакологическому исследованию веществ с потенциальным церебропротекторным и возможным антидепрессивым действием используются в научно-исследовательской работе кафедр фармакологии и клинической фармакологии ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО и кафедры физиологии человека и животных ГОО ВПО ДОННУ.

Методология и методы исследования:

В приведенном исследовании использовали комплексный подход к изучению нейропротективных и антидепрессивых свойств пирацетама, диакамфа гидрохлорида и производного оксиндола – соединения R-86 [26]. В исследованиях на срезах гиппокампа крыс изучали нейропротективную активность исследуемых веществ при воздействии на срезы таких повреждающих воздействий, как глутаматная эксайтотоксичность, аноксия и

нейроагликемия, а также оксидативный стресс. В исследованиях на срезах медиальной префронтальной коры изучали характер нарушений синаптической передачи и синаптической пластичности при моделировании поведенческой депрессии различного генеза и влияние на эти нарушения антидепрессантов и церебропротекторов [10, 19, 23, 25]. В поведенческих исследованиях изучали влияние применяемых веществ на показатели поведенческой депрессии у крыс, вызываемой плавательным стрессом и хроническим воспалением.

Дизайн исследования соответствовал международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при 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 результатов.

Положения, выносимые на защиту:

1. У диакамфа и производного оксиндола – соединения R-86 в исследованиях на срезах гиппокампа крыс выявлена церебропротективная активность, которая проявлялась индивидуальным набором антиэксайтотоксического, антиоксидативного и антианоксического эффектов.

2. Депрессогенные воздействия – хроническое воспаление и обусловленный введением резерпина дефицит моноаминов в мозге – вызывают нарушения релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов поверхностных и глубоких слоев прелимбической и передней поясной коры крыс. Существенно, что эти повреждения ослабляются антидепрессантами и церебропротекторами, т. е. являются одной из причин развития депрессивного фенотипа поведения.

3. Церебропротекторы диакамф и соединение R-86 обладают антидепрессивым действием при хроническом введении в условиях

поведенческой депрессии у крыс, вызываемой плавательным стрессом и хроническим воспалением. Это действие проявлялось уменьшением времени иммобилизации крыс в плавательном тесте Порсолта, но увеличением показателя предпочтения потребления раствора сахарозы.

4. Церебропротекторы диакамф и соединение R-86 помимо антидепрессивого действия обладают способностью усиливать влияния классических (имипрамин и амитриптилин) и быстродействующих (кетамин) антидепрессантов на основные проявления вызываемой плавательным стрессом и хроническим воспалением поведенческой депрессии у крыс.

5. Антидепрессивое действие диакамфа и соединения R-86, а также используемых антидепрессантов обусловлено такими проявлениями их церебропротективной активности, как антиэксайтотоксическое и антиоксидантное действие; способность исследуемых веществ ослаблять аноксические повреждения нейронов несущественна для их влияния на поведенческую депрессию.

Личный вклад:

Автором самостоятельно проведен поиск и анализ отечественных и зарубежных источников литературы по изучаемой проблеме, выполнена экспериментальная часть работы, проведена статистическая обработка и описание результатов исследования. Автор принимал участие в формулировке цели, задач, выводов и научно практических рекомендаций. При его участии проведен подбор методов и обшей структуры исследования, разработаны протоколы экспериментов.

Степень достоверности и апробация результатов:

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, применением специализированного и высокотехнологичного оборудования, общепринятых методов и критериев статистической обработки данных. Материалы исследования докладывались и

обсуждались на 77, 79, 80-м Международных медицинских конгрессе молодых ученых "Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины" г. Донецк.

По материалам диссертации опубликованы 12 печатных работ, в том числе 4 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки Российской Федерации.

Объем и структура диссертации:

Диссертация изложена на 205 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, научно-практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, включающего 228 источников, из них 32 отечественных и 196 зарубежных авторов. Работа проиллюстрирована 34 таблицами и 16 рисунками.

ГЛАВА 1. ВЫЗЫВАЕМЫЕ СТРЕССОМ И ВОСПАЛЕНИЕМ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛИМБИЧЕСКИХ СТРУКТУР МОЗГА КАК ФАКТОРЫ, ПРОВОЦИРУЮЩИЕ И УТЯЖЕЛЯЮЩИЕ ДЕПРЕССИВНЫЙ СИНДРОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ МОЗГА

Несмотря на определенные успехи в исследованиях нейрофизиологических и нейрохимических механизмов развития аффективных расстройств и в разработке методов их лечения число больных неуклонно возрастает из года в год. Так депрессивные расстройства, главным образом большая депрессия, являются одной из ведущих причин нетрудоспособности в мире и только в США этими расстройствами страдают 17 % населения. Согласно прогнозам Всемирной Организации Здравоохранения к 2020 году депрессия займет второе место в общей структуре заболеваемости. Экономические издержки во всем мире, связанные с этим заболеванием, достигают величины 210 млрд долларов США ежегодно и наблюдается выраженная тенденция к их росту. Количество жертв суицидов вследствие депрессии в два раза больше, нежели жертв убийств, и 23 % больных депрессией реализовали самоубийство, несмотря на лечение антидепрессантами до момента смерти [169]. По разным данным в РФ от 5 до 15 % населения страдают различными формами депрессии, причем наиболее распространенной является сезонная депрессия. За последние 50 лет заболеваемость депрессией в стране увеличилась в 10 раз. Данные о финансовых затратах в РФ, связанных с проблемами депрессии, в открытой литературе отсутствуют.

После появления в 50-е годы прошедшего столетия первых антидепрессантов – ингибиторов моноаминоксидаз и реаптейка моноаминов – была сформулирована моноаминергическая гипотеза патогенеза депрессий [180]. Со временем стали очевидными слабые стороны и недостатки этой гипотезы. К настоящему времени все большей популярностью пользуется сетевая нейропластическая гипотеза патогенеза аффективных расстройств, которая интегрирует данные о изменениях во внутриклеточных сигнальных путях и нейротрофических механизмах, в нейрогенезе в зрелом мозге, о изменениях релейных и пластических свойств аминокислотных синапсов, о ремоделировании отдельных нейронов и нейронных сетей, вовлеченных в патофизиологию и лечение аффективных расстройств [74, 152, 175]. Возникающие при аффективных расстройствах нейропластические изменения вызывают нарушения гомеостатических механизмов, дестабилизацию и ослабление синаптических связей в эмоциональных и когнитивных нейронных сетях [87, 114, 167].

В прижизненных исследованиях мозга больных депрессией с помощью протон-магнитной резонансной спектроскопии установлено уменьшение объема серого вещества передней поясной коры (ППК), префронтальной коры (ПФК), латеральной и медиальной орбитофронтальной коры [91, 121, 131]. Уменьшение целостности белого вещества (плотности аксонов) в мозолистом теле было выявлено у не леченных больных с первым эпизодом униполярной депрессии [93, 119]. Морфометрические исследования ПФК больных депрессией выявили уменьшение размера сомы нейронов и снижение плотности нейронов и глиальных клеток [93, 119], что указывает на то, что волюметрические изменения хотя бы частично обусловлены нарушениями морфологии нейронов и глии. Параллельно с этим установлено снижение экспрессии генов, кодирующих синаптические белки и уменьшение плотности синапсов [106]. Поскольку в ПФК и других относящихся к лимбической системе областях коры, а также в миндалинах и прилежащем ядре преобладают глутаматергические синапсы, при

аффективных расстройствах повреждается в первую очередь глутаматергическая синаптическая передача.

Считают, что поведенческий стресс является фактором, предрасполагающим и запускающим аффективные расстройства у человека, поэтому большинство моделей депрессии у грызунов используют стандартизованные процедуры воздействия хронического стресса [136, 151, 157, 216]. В разных моделях депрессии, базирующихся на воздействии хронического стресса на животных, установлено уменьшение длины апикальных дендритов и их ветвления, снижение плотности дендритных шипиков пирамидных нейронов 2/3 слоев ПФК. У нейронов глубокого 5 слоя ПФК также обнаружена значительная ретракция апикальных дендритов [122]. Интересно, что стрессогенное воздействие не изменяет длины базальных дендритов пирамидных нейронов 5 слоя ПФК, куда проецируются аксоны пирамидных нейронов базолатерального ядра миндалины, и один из гормонов стресса кортикотропин высвобождающий фактор (КРФ) возбуждает синаптический аппарат базальных дендритов [129]. Этот дисбаланс активности апикальных и базальных дендритов проекционных нейронов ПФК в какой-то мере объясняет негативное влияние миндалин на ПФК при депрессивном синдроме. В ряде исследований показано, что воздействие хронического стресса в пренатальном периоде, ювенильном и зрелом возрасте вызывает уменьшение плотности дендритных шипиков, длины и ветвления апикальных дендритов пирамидных нейронов 2/3 слоев медиальной ПФК, которые сопровождаются нарушениями эмоционального и когнитивного поведения животных [56, 122, 128].

Хотя механизмы влияния хронического стресса на структуры и функции ПФК окончательно не выяснены, накоплено определенное количество экспериментальных фактов, указывающих на то, что один из гормонов стресса – кортикостерон частично воспроизводит структурные и функциональные изменения, вызываемые хроническим стрессом в ПФК. Хроническое введение больших доз кортикостерона животным вызывало уменьшение плотности

шипиков в пирамидных нейронах 5 слоя ПФК и нарушение формирования следов памяти; в нейронах 2/3 слоев коры в этих условиях наблюдали разрастание проксимальных отделов, но редукцию дистальных отделов апикальных дендритов. Повторное введение кортикостерона в пре- и инфралимбические отделы медиальной ПФК нарушало рабочую память, но усиливало консолидацию долгосрочной памяти и эти эффекты устранялись блокатором глюкокортикоидных рецепторов мифепристоном [113]. С другой стороны, введение КРФ в медиальную ПФК повышало уровень тревоги (усиление анксиогенного влияния миндалин!), но не влияло на реализацию реакции условного страха.

Наряду с морфологическими и поведенческими нарушениями хронический стресс вызывает нарушения синаптического аппарата кортикальных нейронов. Эти нарушения касаются как пресинаптического высвобождения глутамата, так и состояния постсинаптического уплотнения. Так повторные воздействия хронического умеренного иммобилизационного стресса наряду с уменьшением ветвления апикальных дендритов и плотности шипиков вызывали развитие дефицита возбуждающих постсинаптических токов (ВПСТ) пирамидных нейронов 5 слоя ПФК [129]. В другом исследовании установлено, что хронический стресс вызывает уменьшение количества больших грибоподобных шипиков в апикальных дендритов пирамидных нейронов 5 слоя ПФК и уменьшение амплитуды и частоты стимулируемых серотонином и гипокретином миниатюрные возбуждающих постсинаптических токов (мВПСТ) [122]. Воздействие непредсказуемого или иммобилизационного стресса в течение 5 – 7 дней вызывало в синапсах пирамидных нейронах 2/3 слоев ювенильных крыс угнетение АМРА- и НМДА-зависимых синаптических потенциалов и, в связи с ослаблением синаптического драйва, угнеталась генерация спонтанных потенциалов действия. Наблюдаемые изменения обусловлены опосредуемой убиквитин/протесомальной деградацией NR1 и ГлуА1 субъединиц глутаматных рецепторов [224, 225, 227]. Влияние

хронического стресса на синаптический аппарат кортикальных пирамидных нейронов зависит от пола животных. Действительно, вышеописанные изменения структуры и функций глутаматергических синапсов наблюдаются у самцов, но не самок крыс. Установлено, что эстрогены защищают самок от развития неблагоприятных реакций, вызываемых хроническим стрессом, и предотвращают индуцируемые стрессом нарушения после введения самцам [213]. Интересно, что синтез эстрогенов из эндогенного холестерина в результате действия нейрональных ароматаз играет определенную роль в модуляции глутаматергической нейропередачи при действии хронического стресса, поскольку ингибиция ароматаз у самок приводит к утрате резистентности к действию хронического стресса [213].

Установлено также, что хронический стресс наряду с нарушениями релейных свойств вызывает нарушения пластических свойств глутаматергических синапсов нейронов ПФК. Снижение плотности шипиков в апикальных и базальных дендритах и атрофия базальных дендритов в пирамидных нейронах 2/3 слоев ПФК, вызываемые материнской депривацией в постнатальном периоде, сопровождается ослаблением развития длительной потенциации синаптической передачи, угнетением экспрессии участвующих в развитии длительной потенциации белков, включая субъединицы глутаматных AMPA рецепторов. Кроме того, хронический иммобилизационный стресс угнетает экспрессию зависимой от Д1 дофаминовых (ДА) рецепторов длительной потенциации в ПФК; в постстрессорном периоде эта опосредуемая катехоламинами форма синаптической пластичности полностью восстанавливается [56].

Информация о влиянии хронического стресса на пресинаптическое высвобождение и внеклеточный уровень глутамата скудная. При исследовании коры мозга животных, подвергнутых воздействию хронического стресса, выявлена даун-регуляция двух глиальных глутаматных транспортеров GLT1 и GLAST и снижение активности фермента глутамат-аммиак лигазы, который

превращает глутамат в нетоксичный глутамин. Эти нейрохимические изменения создают предпосылку для повышения концентрации глутамата во внеклеточных пространствах [153].

В общих чертах влияние стресса на другую лимбическую структуру – гиппокамп - при хроническом стрессе сходно с его влиянием на ПФК. Действительно хроническое воздействие стресса или избытка глюкокортикоидов приводит к развитию атрофии и ретракции апикальных дендритов пирамидных нейронов гиппокампа, снижению плотности нейропиля (скопление отростков нервных клеток) без видимой потери клеток; аналогичные изменения выявлены в посмертных препаратах мозга больных депрессией [137, 144]. Заслуживает внимания и то обстоятельство, что длительное воздействие больших доз кортикостерона вызывает гибель пирамидных нейронов гиппокампа [177]. Наряду с морфологическими проявлениями повреждения гиппокампа хронический стресс вызывает нарушения синаптической пластичности, а именно угнетает развитие длительной потенциации, но усиливает экспрессию длительной депрессии синаптической передачи [199, 218]. Наконец, воздействие хронического стресса угнетают нейрогенез в зубчатой извилине зрелых животных; этот же эффект воспроизводится при хроническом введении животным кортикостерона [69, 75]. Одно из наиболее очевидных нарушений функций гиппокампа, проявляющеяся в условиях вызываемых хроническим стрессом его морфофункциональных дефектов, это специфические повреждения гиппокамп-зависимых форм памяти [176].

Следующая ключевая структура лимбической системы – прилежащее ядро (n. Accumbens). Получая афферентную информацию от других лимбических структур – гиппокампа, миндалин, ПФК и некоторых среднемозговых образований – прилежащее ядро формирует мотивации и реакции вознаграждения [50, 191]. В ряде исследований показано, что после стрессорных воздействий эти афферентные входы к прилежащему ядру становятся дисфункциональными в результате изменений его клеточных и молекулярных

механизмов [50]. В прижизненных исследованиях мозга больных депрессией не выявлено изменений объема прилежащего ядра по сравнению со здоровыми субъектами, хотя у некоторых пожилых пациентов установлено уменьшение объема ядра. В тоже время, оценка кровотока указывает на существенное снижение у больных активности прилежащего ядра и вентрального стриатума в целом [103].

На 95 % клеточный состав прилежащего ядра представлен среднешипиковыми нейронами (СШН); последние делят на 2 группы в зависимости от экспрессии дофаминовых рецепторов (ДАР) типов Д1 и Д2, и их аксонных проекций [126]. Экспрессирующие Д1 ДАР СШН посылают свои проекции к вентральному паллидуму, внутренней части бледного шара, вентральной тегментальной области (ВТО) и черной субстанции, в то время как имеющие Д2 ДАР СШН проецируюся к вентральному паллидуму [79]. Баланс этих двух нейронных популяций обеспечивает нормальное, адекватное поведение. Усиление активности Д1-СШН обеспечивает реализацию позитивного подкрепления, в то время как рост активности Д2-СШН определяет развитие аверсивных состояний [79]. Установлено, что ослабление глутаматергической возбуждающей нейропередачи в синапсах Д1-СШН прилежащего ядра вызывает развитие ангедонии после иммобилизационного стресса [126]. В исследованиях на мышах с применением метода хронического защитного социального стресса установлено, что повышение спайковой активности Д1-СШН восстанавливает нормальное социальное поведение и потребление сладкого раствора, тогда как угнетение активности этих нейронов провоцирует социальное избегание и ангедонию. Более того, хроническая оптогенетическая стимуляция Д2-СШН прилежащего ядра вызывала развитие социального избегания и не изменяла потребления сладкого раствора у мышей подвергнутых воздействию подпорогового социального защитного стресса, который сам по себе не изменял поведение животных [53] . Таким образом, вызываемое хроническим стрессом угнетение синаптических процессов в Д1-

СШН прилежащего ядра и, как следствие этого, повышение электрической возбудимости этих нейронов лежат в основе развития депрессивного фенотипа поведения. Можно думать, что антидепрессивное действие повышения спайковой активности Д1-СШН прилежащего ядра не связано с активацией процессов вознаграждения, поскольку грызуны не демонстрируют самостимуляции проекций от ПФК к прилежащему ядру, а оптогенетическая стимуляция в прилежащем ядре аксонных проекций от нейронов 5 слоя ПФК не усиливает потребления сладкого раствора [53].

Центральной модулирующей структурой лимбической системы является вентральная тегментальная область (ВТО), большая часть нейронов которой синтезирует и высвобождает в аксонных терминалях ДА. При воздействии хронического социального стресса у животных с депрессивным фенотипом поведения ДАергические нейроны ВТО, иннервирующие прилежащее ядро, переходят в фазический режим генерации потенциалов действия [51], хотя у интактных животных большая часть этих нейронов находится в «молчащем» состоянии из-за мощного тормозного влияния вентрального субикулума (основания гиппокампа). В тоже время, ДАергические нейроны, иннервирующие ПФК, в условиях хронического стресса угнетаются [51]. При угнетении активности всех нейронов ВТО в результате избыточной экспрессии в них потенцил-зависимы (п/з) К+ каналов при воздействии хронического стресса не наблюдали развития социального избегания и ангедонии; наоборот, при генетически обусловленном повышении возбудимости ДАергических нейронов ВТО развивается депрессивный фенотип поведения. С другой стороны, оптогенетическая стимуляция проецирующихся к прилежащему ядру нейронов ВТО или оптогенетическое угнетение проецирующихся к ПФК ДАергических нейронов облегчает развитие депрессивного фенотипа поведения [51].

Какие нейрохимические механизмы задействованы в развитие депрессивного фенотипа поведения, обусловленного нарушениями в системе прилежащее ядро – ВТО вследствие действия хронического стресса,

окончательно не выяснено. В настоящее время эта проблема интенсивно разрабатывается. Установлено, что хронический социальный защитный стресс вызывает интенсификацию сигнального пути нейротрофина BDNF при взаимодействии ВТО и прилежащего ядра. Эта интенсификация проявляется усилением активации рецепторной тирозинкиназы (ТркВ – рецептора BDNF) и это приводит к повышению чувствительности к действию стресса [88, 142]. Интенсификация сигнального пути BDNF запускается вспышечным режимом разрядов ДАергических нейронов ВТО. С другой стороны, блокада сигнального пути BDNF-ТркВ или более дистальных эффекторов этого пути, в частности, протеинкиназы, регулируемой внеклеточными сигналами ERK, повышает устойчивость животных к стрессу. Другой дистальный эффектор этого сигнального пути – серин/треониновая протеинкиназа АКТ также обладает продепрессивным действием. Некоторые из этих нейрохимических изменений установлены в мозге больных депрессией [115].

Одной из конечных мишеней сигнальных путей BDNF-ТркВ- ERK и BDNF-ТркВ - АКТ является активируемый цАМФ и Ca2+ транскрипционный фактор CREB. Повышение активности этого транскрипционного фактора в прилежащем ядре сопровождается повышением уязвимости к действию стресса и развитию поведенческой депрессии, но параллельно развивается анксиолитическое действие [88]. CREB модулирует активность ряд генов и изменяет экспрессию в СШН прилежащего ядра субъединиц некоторых калиевых каналов, глутаматных рецепторов, динорфина и некоторых других нейропептидов. Так, усиление образования и последующего высвобождения в аксонных терминалях Д1-СШН динорфина опосредует активацию к-опиоидных рецепторов в ДАергических нейронах ВТО, угнетает высвобождение ДА в прилежащем ядре и способствует формированию депрессивного фенотипа [51]. С другой стороны, угнетение экспрессии калиевых каналов, но усиление экспрессии субъединиц AMPA глутаматных рецепторов повышает возбудимость

СШН прилежащего ядра и облегчает развитие глутаматергической синаптической пластичности [215].

В отличие от транскрипционного фактора CREB другие факторы транскрипции – ΔFOSB, сывороточный фактор SRF и β-катенин – способствуют развитию устойчивости к повреждающему действию хронического стресса. Все эти три фактора экспрессируют в прилежащем ядре устойчивых к действию стресса мышей и предотвращают развитие депрессивного поведения [204]. ΔFOSB при действии на СШН прилежащего ядра усиливает экспрессию ГлуА2 субъединицы глутаматных AMPA рецепторов и снижает глутаматергический тонус этих нейронов, в то время как CREB усиливает экспрессию содержащих ГлуА1 субъединицу AMPA рецепторов, что приводит к усилению глутаматергического тонуса нейронов прилежащего ядра.[35, 181]

В вызываемых стрессом нарушениях поведения экспериментальных животных и в развитии большой депрессии существенную роль играет миндалевидный комплекс – группа ядер, расположенная в медиальной височной доле. Выполняемые миндалинами функции многообразны. Важнейшие из них – регуляция активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, формирование условного страха, регуляция эмоций. В первом приближении важнейшей структурой миндалин является базолтеральное ядро, состоящее из базального и латерального ядер. Нейроны этих ядер проецируют к фронтальной коре (передней поясной и медиальной префронтальной), гиппокампу, дорсальному и вентральному стриатуму (прилежащее ядро). Помимо этого, нейроны базального ядра миндалины проецируют к центральному и медиальному ядрам миндалин. В свою очередь, нейроны центрального ядра посылают проекции к ядру ложа конечной полоски, гипоталамусу, среднему мозгу и продолговатому мозгу; проекции медиального ядра ограничены двумя первыми структурами [161]. В процессе взаимодействия миндалин с разными отделами ПФК осуществляется автоматическая и произвольная регуляция эмоций. В исследованиях на живом мозге у людей выявлено, что увеличение

активности ПФК во время переоценки эмоционально значимых событий связано с угнетением активности миндалин и, наоборот, повышение активности миндалин особенно их базолатеральных отделов порождает рост уровней тревожности и депрессивности. [181].

Аверсивные воздействие такие как жесткий стресс существенно повышают возбудимость миндалин и приводят к развитию тревожных расстройств и посттравматического стресс-индуцируемого расстройства [125]. В отличие от других структур лимбической системы воздействие хронического стресса приводит к увеличению размеров и активности миндалин. В прижизненных исследованиях мозга выявлено увеличение объема миндалевидного комплекса у больных большой депрессией, хотя это изменение наблюдали у получавших антидепрессанты больных [80]. Помимо этого выявлено возрастание активности миндалин, которое значимо коррелировало с интенсивностью негативного аффекта [33].

Хронический стресс облегчает развитие амигдало-зависимого (эмоционального) обучения, в отличие от гиппокамп-зависимого декларативного (контекстуального) обучения. У крыс хронический стресс усиливает экспрессию условного страха и повышает уровень тревожности в различных поведенческих тестах [207]. В тоже время, воздействие хронического неизбегаемого стресса вызывает атрофию только биполярных нейронов, а также уменьшение ветвления дендритов и плотности шипиков в нейронах центрального и медиального ядер миндалин в связи с ростом активности внеклеточных протеаз - активатора тканевого плазминогена [206]. У крыс хронический стресс увеличивает длину и ветвление дендритов амигдалярных пирамидных нейронов и нейронов ядра ложи конечной полоски. В этих же условиях выявлено повышение плотности дендритных шипиков и синаптических контактов пирамидных нейронов миндалин. Интересно, что эти изменения не обращались даже через несколько недель после прекращения стрессорного воздействия [33].

Хронический стресс облегчает развитие синаптической пластичности в разных отделах миндалин, усиливая условный страх, повышая уровни фоновой и ситуативной тревожности, и затрудняя угасание условного страха. Эти морфологические и функциональные проявления нейропластичности обусловлены действием гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Так хронический плавательный стресс усиливает высвобождение кортикотропин-высвобождающего гормона (CRF) и активация CRF1 рецепторов в нейронах базолатерального ядра миндалины облегчает развитие длительной потенциации в синапсах, образованных дендритами этих нейронов и аксонами кортикальных нейронов, повышает электрическую возбудимость проекционных нейронов ядра и способствует развитию депрессивного поведения. Эти эффекты воспроизводятся при введении CRF в базолатеральное ядро интактных животных и предотвращаются при введении блокатора CRF1 рецепторов NBI27914 [55]. Глюкокортикоиды также изменяют свойства нейронов базолатерального ядра. Так введение кортикостерона крысам до стрессового уровня вызывало деполяризацию пирамидных нейронов, рост их входного сопротивления и резкое снижение адаптации частоты спайковых разрядов. Более того, снижалась амплитуда тормозного постсинаптического тока (ТПСТ) в связи с изменением хлорного (Cl^-) равновесного потенциала [149]. Разрастание дендритого дерева и повышение плотности дендритных шипиков пирамидных нейронов базолатерального ядра также опосредовано активацией ядерных глюкокортикоидных рецепторов. Так эстрогены уменьшают экспансию дендритов, понижают возбудимость нейронов базолатерального ядра миндалины и оказывают анксиолитическое действие. Хроническое введение кортикостерона мышам, в миндалинах которых экспрессировали химерные глюкокортикоид/эстрогенные рецепторы, в отличие от контрольных животных не сопровождалось экспансией дендритов и повышением уровня тревожности [149]. Наконец, стресс-индуцируемое усиление высвобождения катехоламинов мозга активирует альфа- и бета-адренорецепторы нейронов миндалины.

Норадреналин и адреналин через посредство обоих типов адренорецепторов повышают электрическую возбудимость нейронов базолатерального ядра, снижают активность Ca^{2+}-активируемых K^{+} каналов (SK каналов), ослабляют послеспайковую гиперполяризацию и облегчают экспрессию длительной потенции синаптической передачи [77].

Одной из вероятных причин развития нейроатрофических повреждений лимбических структур (кроме миндалин) при воздействии хронического стресса может быть нарушение экспрессии нейротрофинов мозга, в первую очередь BDNF. BDNF образуется из предшественника с помощью внеклеточных протеаз и оба эти белка активируют разные сигнальные пути. Предшественник активирует низкоаффинный нейротрофиновый рецептор $p75^{NTR}$, который вовлечен в апоптоз нейронов. Зрелый BDNF связывается с рецептором - высокоаффинной ТркВ, который димеризуется, аутофосфорилируется по остаткам тирозина и активирует ряд сигнальных каскадов. BDNF активирует сигнальный путь фосфатидилинозитол-3-киназы и через посредство серин/треониновой киназы АКТ обеспечивает выживание нейронов. Через посредство митоген-активируемых протеинкиназ MAPK и ERK нейротрофин регулирует рост нейронов. BDNF активирует сигнальный путь фосфолипазы С гамма, в результате чего возрастает активность протеинкиназы С и Са/кальмодулин-зависимых протеинкиназ, которые регулируют синаптическую пластичность. Наконец, BDNF фосфорилирует мембранные рецепторы и потенциалозависимые ионные каналы и изменяет хемочувствительность и возбудимость мембран нейронов [221].

Воздействие хронического иммобилизационного стресса в течение 3 недель вызывало атрофию дендритов пирамидных нейронов гиппокампа крыс. Это сопровождалось снижением уровня мРНК BDNF в гиппокампе, повышением плотности глюкокортикоидных рецепторов в гипоталамусе и повышение иммунореактивности к триптофангидроксилазе в срединных ядрах шва крыс [37]. В других исследованиях также выявлено параллельное развитие

атрофии дендритов пирамидных нейронов гиппокампа и снижение уровня BDNF в гиппокампе. С другой стороны, хроническое введение антидепрессантов предотвращает вызываемую воздействием хронического стресса атрофию дендритов и снижение уровня BDNF в гиппокампе [88]. Аналогичные результаты получены при генетической избыточной экспрессии BDNF в мозге мышей [88].

Иная ситуация наблюдается в системе ВТО – прилежащее ядро. Хронический защитный социальный стресс усиливает экспрессию BDNF в прилежащем ядре мышей с депрессивным фенотипом поведения; у устойчивых к стрессу мышей уровень BDNF в ядре не изменяется. Делеция гена bdnf в ВТО взрослых мышей снижает чувствительность к действию стресса, что указывает на возможный транспорт нейротрофина из ВТО в прилежащее ядро. Кроме того сочетание однодневного стресса с оптогенетической стимуляцией проецирующихся в прилежащее ядро ДАергических нейронов вызывает развитие социального избегания и других дефицитов поведения, а перечисленные воздействия по отдельности нарушений поведения не вызывают [54]. Фазическая стимуляция нейронов ВТО, проецирующихся в прилежащее ядро, повышает уровень белка BDNF в прилежащем ядре мышей, подвергнутых однодневному стрессу, а блокада ТркВ предотвращает способность оптогенетической стимуляции вызывать поведенческий дефицит [208]. Установлено также, что фармакологическая блокада ТркВ, но не фармакологическая блокада рецепторов ДА в прилежащем ядре предотвращает вызываемые хроническим стрессом нарушения поведения. С другой стороны, хроническая фазическая опттогенетическая стимуляция пути ВТО – прилежащее ядро во время процедуры хронического защитного социального стресса усиливает развитие депрессивного фенотипа поведения и это предотвращается блокадой ТркВ в прилежащем ядре [76, 112].

Хронический защитный социальный стресс повышает уровень глюкокортикоидов в моге, в том числе в лимбической системе. Кортикостерон

через посредство глюкокортикоидных рецепторов возбуждает ДАергические нейроны ВТО. Мыши с генетической делецией глюкокортикоидных рецепторов в ДА-сенситивных нейронах в условиях воздействия хронического стресса проявляли усиление социальной аверсии; при этом уровень тревоги и условный страх не изменялись. В тоже время, острое угнетение активности ДА-высвобождающих нейронов восстанавливало социальное взаимодействие у чувствительных к стрессу мышей без генетических дефектов [198].

Аналогичная ситуация наблюдается в базолатеральном отделе миндалин. У больных большой депрессией выявлена гипертрофия миндалевидного комплекса. Хотя не совсем понятно, имеет ли это структурное нарушение отношение к данному заболеванию, тем не менеее в доклинических исследованиях установлено, что именно BDNF вызывает экспансию миндалин в ответ на воздействие стресса [223]. Как отмечалось ранее, вызываемый воздействием стресса рост уровня кортикостерона у грызунов повышает возбудимость нейронов базолатерального ядра. Это приводит к усилению высвобождения BDNF, который, как и при формировании условного страха, вызывает разрастание дендритов пирамидных нейронов и повышение плотности дендритных шипиков [223].

Таким образом, воздействие хронического стресса приводит к разнонаправленным изменениям уровня BDNF в различных структурах лимбической системы. В разных отделах фронтальной коры и в гиппокампе уровень нейротрофина понижается и это приводит к атрофическим поражениям этих структур и ослаблению их функций. С другой стороны, в прилежащем ядре и миндалевидном комплексе повышается уровень BDNF и это приводит к усилению их функциональной активности, в результате чего формируется депрессивный и тревожный фенотип поведения. Ослабление регуляции активности миндалин и прилежащего ядра со стороны фронтальной коры и гиппокампа усиливает и фиксирует поведенческую депрессию.

Помимо нарушений экспрессии BDNF в кортикальных структурах и гиппокампе другой причиной нейроатрофических проявлений при воздействии хронического стресса может быть эксайтотоксическое действие глутамата. Тотальная концентрация глутамата в мозге очень высокая – порядка 10 мМ, однако во внеклеточных пространствах она на 4 порядка меньше – 1-5 мкМ, что связано с активностью трех транспортеров глутамата. Транспортер EAAC1 обеспечивает поступление аминокислоты в нейрон. Транспортер GLT1 локализован в мембранах астроцитов и обеспечивает низкую концентрацию глутамата во внеклеточных пространствах. Глутамат/аспартатный транспортер GLAST экспрессирует в глиальных клетках и активируется высокими концентрациями глутамата [105].

Метаболические взаимоотношения между астроцитами и нейронами чрезвычайно важны как для энергетического метаболизма, так и для синтеза нейромедиаторов. Пришедшие в аксонные терминали глутаматергических нейронов потенциалы действия способствуют открытию высокопороговых Ca2+ каналов и высвобождению глутамата в синаптическую щель. Здесь медиатор связывается с рецепторами и транспортируется посредством GLT1 внутрь астроцитов, где конвертируется в нетоксичный глутамин. В нейронах захваченный из синаптической щели глутамат частично превращается в глутамин, часть его декарбоксилируется и превращается в ГАМК, а остальное количество глутамата превращается в промежуточный продукт цикла трикарбоновых кислот – α-кетоглутарат [108, 118]. Повышение внеклеточного уровня глутамата вызывает гибель нейронов. Этот феномен, называемый эксайтотоксичностью, вовлечен в развитие ряда неврологических и психических заболеваний. Эксайтотоксичность обусловлена активацией преимущественно НМДА глутаматных рецепторов и нарушением кальциевого гомеостаза в нейронах [130]. Накапливаются данные, согласно которым глутаматная нейротоксичность связана с преимущественной активацией внесинаптических НМДА рецепторов [148, 150]. В этих исследованиях показано, что избыточная

активация внесинаптических НМДА рецепторов активирует трансдукционный каскад, приводящий к апоптозу нейронов, в то время как активация синаптических НМДА глутаматных рецепторов субъединичной композиции NR1/NR2A запускает нейропротективные механизмы и поддерживает жизнедеятельность нейронов, причем нейропротективный и апоптотический пути запускаются повышением внутриклеточной концентрации Ca2+. В этом плане интересны результаты, полученные при исследовании неконкурентного блокатора НМДА рецепторов мемантина, который в низких дозах не действует на синаптические, но блокирует внесинаптические рецепторы N-метил-D-аспартата и ослабляет нейродегенеративные процессы при повышении внеклеточной концентрации глутамата, не нарушая при этом когнитивных процессов [52, 171, 172, 226].

Доклинические и клинические исследования указывают на определенную роль глутаматергической системы мозга в развитии депрессивного синдрома [155]. Глутамат как медиатор управляет процессами межнейронной передачи информации, синаптической пластичности, пролифирации и миграции нейронов. Он взаимодействует с ионотропными (НМДА, AMPA и каинатными) и метаботропными (мГлуР 1-8) рецепторами. У больных депрессией выявлен более высокий по сравнению со здоровыми субъектами уровень глутамата в плазме крови [109]. Мыши с генным нокаутом ГлуА1 субъединицы AMPA рецепторов демонстрируют депрессивный фенотип поведения [219]. Выявлено, что стресс-индуцируемые повреждения глутаматных транспортеров, субъединиц НМДА рецепторов и ДНК в префронтальной коре, гиппокампе, прилежащем ядре и миндалинах способствуют развитию депрессивного и тревожного фенотипа поведения [73]. В посмертных препаратах мозга больных униполярной депрессией выявлена гипофункция глутаматергической системы [47, 57]. Однако в экспериментальных доклинических исследованиях получены противоречивые результаты.

Выявлено, что воздействие хронического стресса вызывало у зрелых животных усиление захвата и высвобождения глутамата в дорсальном гиппокампе, но ослабление связывания [3H]- глутамата синаптосомами [164] . Хронический стресс усиливал эксайтотоксические поражения аксонов моноаминергических нейронов, вызываемые психостимуляторами [195]. Однако у взрослого потомства крыс, которые последние 10 дней беременности подвергались воздействию иммобилизационного стресса, наблюдали существенное ослабление вызываемого деполяризацией высвобождения глутамата и уменьшение экспрессии ассоциированных с синаптическими везикулами белков в вентральном гиппокампе, который формирует эмоциональную память и реакции на воздействие стресса. Введение этим крысам коктейля из блокаторов $ГАМК_B$ и глутаматных метаботропных 2/3 рецепторов, которые усиливают высвобождение глутамата, устраняло поведенческие нарушения [140].

[1]В исследованиях на высокочувствительных к условному страху крысах (тревожные крысы – ТК) установлено, что воздействие хронического умеренного стресса в течение 20 дней вызывало снижение уровня NR1 субъединицы НМДА рецепторов в гиппокампе и миндалине, но не ПФК, и это соответствует клиническим наблюдениям, согласно которым в зубчатой извилине и области CA3 гиппокампа выявлено угнетение экспрессии этой субъединицы [85]. Воздействие хронического стресса снижало уровень имеющих преимущественно синаптическую локализацию и содержащих NR2A субъединицу НМДА рецепторов в миндалинах, но усиление их экспрессии в прилежащем ядре. Так снижение уровня этого подтипа НМДА рецепторов в гиппокампе связывают с нейротоксическим действием изониазида и точечная мутация остатка тирозина 1325 в структуре NR2A субъединицы НМДА рецепторов в вентральном стриатуме, понижающая активность рецепторов, ослабляет поведенческую депрессию [194]. На фоне хронического стресса выявлено повышение плотности содержащих NR2B субъединицу НМДА

рецепторов в гиппокампе, префронтальной коре и прилежащем ядре; в миндалинах плотность этой популяции рецептроров была снижена [85]. Повышение количества НМДА рецепторов субъединичной композиции NR1/NR2B в структурах мозга приводит к их эксайтотоксическим повреждениям [130], однако в последние годы появились и противоположные результаты [199].

Помимо НМДА рецепторов эксайтотоксические повреждения нейронов могут быть связаны с нарушениями клиренса глутамата и других возбуждающих аминокислот. На фоне вызванной хроническим стрессом поведенческой депрессии наблюдали снижение количества транспортеров GLT1 и GLAST в гиппокампе, вентральном стриатуме и ПФК животных [85, 227]. У больных монополярной депрессией в посмертных препаратах мозга выявлено уменьшение количества транспортеров EAAT1 и GLT1 [57]. В тоже время в ПФК и миндалинах устойчивых к стрессу крыс обнаружили усиление экспрессии транспортера EAAT1; в гиппокампе же крыс, подвергнутых хроническому стрессу, наблюдали возрастание уровня GLT1, в то время как антидепрессант тианептин обращал эти изменения [85].

Таким образом, вызываемые хроническим стрессом нарушения клиренса глутамата, и изменения субъединичной композиции НМДА рецепторов и экспрессии нейротрофинов, в первую очередь BDNF, могут определять неодинаковую устойчивость нейронов разных структур лимбической системы к эксайтотоксическому действию глутамата. Так в наиболее повреждаемой хроническим стрессом структуре – гиппокампе имеет место сочетание усиление экспрессии НМДА рецепторов субъединичной композиции NR1/NR2B, нарушение клиренса глутамата вследствие дефицита транспортеров GLT1 и GLAST и снижение нейропротективного уровня BDNF. С другой стороны, хронический стресс вызывает гипертрофию и гиперактивность миндалин и это может быть обусловлено усилением экспрессии содержащих NR2A и угнетением экспрессии содержащих NR2B субъединицу НМДА рецепторов, усилением

экспрессии нейронального транспортера глутамата EAAT1 и, наконец, повышением уровня BDNF.

Существенную роль в вызываемых хроническим стрессом морфофункциональных повреждениях структур лимбической системы играют процессы перекисного окисления липидов (оксидативный стресс). Оксидативный стресс является общим патогенетическим механизмом, вовлеченным в патогенез многих психических заболеваний, в том числе разных форм депрессии, генерализованных тревожных расстройств, шизофрении и других [168].

В ряде случаев оксидативный стресс связан с нарушением функций митохондрий. Митохондрии – цитоплазматические органеллы, регулирующие жизнедеятельность любой клетки. Главная их функция – продукция АТФ в результате окисления с помощью O_2 глюкозы, пирувата и др. Помимо этого, митохондрии регулируют внутриклеточную концентрацию Ca2+; выделяют белки активаторы каспаз, запускающие апоптоз клеток, и поглощают свободные радикалы [183]. Повреждение митохондрий приводит к усилению образования активных форм кислорода (АФК), которые изменяют структуру и функции мозга при старении и вызывают ряд нейродегенеративных расстройств. Первичный источник образования АФК – комплексы I и III митохондрий, причем комплекс I высвобождает O_2^- в матрикс митохондрий, а комплекс III может высвобождать O_2^- по обе стороны внутренней митохондриальной мембраны. С помощью супероксид дисмутазы O_2^- превращается в H_2O_2, которая свободно проникает через мембраны и является источником высоко реакционного гидроксильного радикала [183]. Повреждение митохондриальных комплексов приводит к нарушению продукции шаперонов митохондрий, в частности, комплекса белка теплового шока (60/Hsp10) [134, 170].

Существует тесная связь между внеклеточным уровнем глутамата и функциями митохондрий. Митохондрии играют важную роль в поглощении внутриклеточного кальция. Механизм поглощения Ca2+ через внутреннюю

мембрану митохондрий важен для регуляции синтеза АТФ, деления и слияния митохондрий, открытия и закрытия пор в мембранах и генерации АФК [61, 68]. Наиболее выраженное негативное влияние на функции митохондрий имеют Ca2+, которые поступают через ионные каналы глутаматных НМДА рецепторов, но не другие источники, включая каинатные рецепторы и потенциалозависимые Ca2+ каналы. Ограничение поступления Ca2+ в митохондрии предотвращает эксайтотоксическую гибель нейронов, т. е. поступление Ca2+ в митохондрии определяет вызываемое глутаматом повреждение нейронов [190]. При повышении внутриклеточной концентрации Ca2+ открываются поры во внешней мембране митохондрий и повышается ее проницаемость для цитотоксических молекул, таких как цитохром С, индуцирующие апоптоз факторы и др. [40, 61, 184]. Кроме того, открытие пор снижает трансмембранный градиент протонов, вызывает разобщение окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ и снижение продукции АТФ. Также происходит прекращение работы насоса, поддерживающего АТФ-зависимую деполяризацию мембраны, и усиление поступления Ca2+. Наблюдается также стимуляция образования NO, который угнетает митохондриальную цепь транспорта электронов.

Еще одна молекула связывает уровень внеклеточного глутамата с оксидативным стрессом. Это цистин-глутаматный антипортер (x_c^-), который захватывает и удаляет из внеклеточного пространства молекулу глутамата, а из цитоплазмы астроцита и/или микроглии во внеклеточное пространство поступает цистин, который захватывается нейроном и там трансформируется в важнейший антиоксидант глутатион [49]. В кортикальных структурах и стриатуме больных депрессией снижена активность глиальных EAAT1 и 2 и нейронального EAAT4 транспортеров глутамата, что приводит к существенному повышению уровней глутамата и D-серина во внеклеточных пространствах [96] . В этих условиях имеет место конкуренция между глутаматом и цистином за использование цистин-глутаматного антипортера, угнетается его активность и в нейронах блокируется биосинтез глутатиона. Это приводит к снижению

активности антиоксидантной системы и обусловленному оксидативным стрессом повреждению нейронов [89].

Жирные кислоты – важный составной элемент мембран нейронов и глиальных клеток. Мембраны способны синтезировать ряд жирных кислот из ацетил-CoA, за исключением предшественников арахидоновой и докозогексаеновой кислот – линолевой и линоленовой кислот. Клеточные мембраны, содержащие высокий уровень ненасыщенных жирных кислот, обладают протективным, противовоспалительным и косвенным антиоксидантным действием, противодействуя экспансии свободных радикалов [92]. При оксидативном стрессе нарушается нормальный внутриклеточный баланс между окисляемыми во время аэробного метаболизма веществами и антиоксидантной системой. Последняя осуществляет нейтрализацию свободных радикалов энзиматическим и неэнзиматическим путями. Энзиматическая система включает супероксид дисмутазу (СОД), каталазу (Кат) и глутатион пероксидазу (ГП). Неэнзиматическая составляющая антиоксидантной системы включает глутатион, альфа-токоферол, кислоту аскорбиновую, флавоноиды, полифенольные соединения и минералы – цинк, медь, селен [92]. Целый ряд физиологических и патологических процессов, таких как старение, избыточное потребление высококалорийной пищи, инфекции и воспалительные заболевания, ионизирующая радиация, эмоциональный и психологический стресс, потребление вызывающих развитие зависимости веществ повышают концентрацию окисляющих веществ, известных как активные формы кислорода или свободные радикалы. Эти вещества содержат в атоме кислорода свободный неспаренный электрон. В мебранах нейронов и глиальных клеток богатые двойными связями полиненасыщенные жирные кислоты (в чистом виде и в составе фосфолипидов) являются мишенью действия свободных радикалов (O_2^-, $H_2O_2^-$, ONO^-), которые запускают цепные реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ). Реакции ПОЛ делают клетки нестабильными вследствие нарушения текучести и проницаемости мембран, функционального состояния

мембранных рецепторов и активируемых ими процессов трансдукции, повреждения митохондриальных и ядерных ДНК. Свободнорадикальный оксидативный стресс увеличивает скорость цикла жизни клеток и вызывает преждевременную гибель клеток. Оксидативный стресс также вызывает нейроатрофические и нейродегенеративные изменения в мозге, приводящие к развитию психических нарушений.

Дисбаланс между окислительной и антиоксидативной системами (оксидативный стресс) является важным звеном патогенеза некоторых нейропсихических заболеваний, включая разные формы депрессии [178]. В биохимических исследованиях больных монополярной депрессией установлено, что в плазме крови содержание оксидантов и индекс оксидативного стресса существенно выше по сравнению со здоровыми субъектами, в то время как антиоксидантная емкость плазмы была существенно снижена. Между выраженностью депрессивной симптоматики и содержанием оксидантов, а также индексом оксидативного стресса выявлена значимая позитивная корреляция. В процессе лечения больных ингибиторами реаптейка серотонина наблюдали повышение антиоксидантной емкости пазмы крови и снижение содержания оксидантов и индекса оксидативного стресса [178]. Некоторые исследователи обнаружили позитивную корреляцию между активностью эритроцитарной СОД и тяжестью заболевания [178], что указывает на возможное повышение уровня антиоксидантного фермента в процессе развития заболевания.

Мета-анализ 29 исследований (3962 больных депрессией и 1484 здоровых субъекта) показал, что у больных в плазме крови повышен уровень малонового диальдегида, снижены уровни антиоксидантов - мочевой кислоты и цинка, повышен уровень антиоксидантного фермента СОД, но уровни других ферментов – Кат и ГП – не изменялись. Лечение разными группами антидепрессантов наряду с ослаблением симптоматики заболевания снижало

уровень малонового диальдегида, и повышало уровни мочевой кислоты и цинка, но различий с контролем по этим показателям не выявлено [104].

Появляются также данные, указывающие на то, что оксидативное повреждение нейронов лимбических структур при депрессивном синдроме может реализоваться через сигнальный путь оксида азота (NO). В посмертных препаратах ПФК больных биполярной депрессией установлено повышение уровня 3-нитротирозина, как следствие накопления ONO^-. В этих же условиях выявлено угнетение экспрессии белковых субъединиц митхондриальной цепи транспорта электронов, что приводит к усилению продукции реактивных форм кислорода и усилению оксидативного стресса [212].

В доклинических исследованиях на крысах установлено, что воздействие хронического плавательного стресса приводило к почти трехкратному увеличению уровня малонового диальдегида в коре, в паравентрикулярном ядре гипоталамуса уровень этого маркера оксидативного стресса возрастал в 2,5 раза, а в мозжечке – не изменялся. При воздействии другой формы – хронического иммобилизационного стресса уровень малонового диальдегида в коре возрастал почти в 5 раз, в мозжечке – в 2 раза и не изменялся в паравентрикулярном ядре гипоталамуса. Выявлено также, что после электролитического повреждения миндалин накопление продуктов оксидативного стресса в коре и в гипоталамусе существенно возрастало, т. е. миндалины оказывают нейропротективное действие при хроническом стрессе [154].

1.2 Влияние воспаления на структуры и функции мозга

Несмотря на значительное количество публикаций, посвященных связи между депрессией и воспалением, их результаты противоречивы. Одни исследователи выявили наличие такой связи [42], а другие исследователи ее не обнаружили [214]. Установлено, что депрессивным симптомам предшествует ап-регуляция интерлейкина (ИЛ)-6 у людей, у которых еще не было проявлений депрессии. С другой стороны показано, что симптомы депрессии не обязательно сопровождаются ростом уровней ИЛ-6 и С-реактивного белка [84, 119]. Соматические депрессивные симптомы (усталость, нарушения сна, анорексия, двигательная ретардация) могут быть следствием воспаления. Возможно, что соматические симптомы обнаруживают более тесную связь с воспалением, чем когнитивные симптомы [64]. Выдвигается предположение, что более выраженные депрессивные симптомы обусловлены более высокими уровнями провоспалительных цитокинов – ИЛ-6, фактора некроза опухолей альфа (ФНО) и С-реактивного белка, причем 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 соматические и когнитивные симптомы тревоги, в то время как высокие уровни ИЛ-6 и ФНО определяют только соматические симптомы [72].

Некоторые продукты деградации бактерий или тканей организма при воспалении, в частности липополисахариды мембран клеток, активируют семейство рецепторов (toll-like receptors – TLR), расположенных в мембранах макрофагов, нейтрофилов и дендритных клеток. При активации TLR рецепторов активируются сигнальные каскады, конечным звеном которых является активация факторов транскрипции – ядерного фактора кВ и регуляторного

фактора интерферона. Последние запускают транскрипцию и последующий биосинтез цитокинов – интерлейкинов-1 и -6 (ИЛ-1, ИЛ-6), фактора некроза опухолей-альфа (ФНО), интерферонов и др. [64]. Эти полипептиды регулируют реакции врожденного иммунитета. С другой стороны, негативные эмоциональные состояния оказывают неблагоприятное влияние на врожденный иммунитет. Если острый стресс усиливает антивирусную защиту, то хронический стресс и депрессия ослабляют ее.

В ЦНС нейроны и глиальные клетки совместно с эндотелиальными клетками способны высвобождать цитокины и экспрессировать рецепторы цитокинов. Цитокины, как образовавшиеся в мозге, так и проникающие в мозг из периферии, могут модулировать активность нейронов, регулировать их жизнедеятельность путем усиления высвобождения из глии и эндотелия нейротрофинов, простагландинов, глутамата, NO, либо прямо активируя собственные рецепторы в мембранах нейронов [203]. Рецепторы цитокинов, в частности ИЛ-1 (IL-1R), располагаются в постсинаптических уплотнениях нейронов коры и гиппокампа и связаны с дополнительным белком сигнальной трансдукции (IL-1R AcPb), который экспрессирует только в нейронах [205]. Цитокины в результате взаимодействия с собственными рецепторами вовлечены в регуляцию ряда физиологических функций, таких как: нейрогенез, выживание нейронов, разрастание дендритного дерева, синаптическая передача и синаптическая пластичность. Однако избыточные продукция и высвобождение цитокинов связаны с нарушениями деятельности нейронов и нейронных ансамблей при нейропатической боли, нейродегенеративных заболеваниях, эпилепсии и психических расстройствах [228].

Цитокины могут модулировать возбудимость центральных нейронов, в результате изменения функциональной активности п/з ионных каналов. Так, ИЛ-1 и ИЛ-6 угнетают экспрессию в кортикальных нейронах мРНК альфа1 субъединицы п/з Na+ каналов и уменьшают амплитуду потенциалов действия. ИЛ-ны также угнетают токи через п/з Ca2+ каналы N-, L- и P/Q-типов в

нейронах коры и гиппокампа и ограничивают поступление в цитоплазму нейронов Ca2+ через высокопороговые каналы [228] и это связывают тоже с угнетением экспрессии альфа1 субъединицы каналов.

Цитокины оказывают выраженное действие на постсинаптический аппарат глутамат- и ГАМКергических синапсов. Так, рецепторы ИЛ-1 в постсинаптических уплотнениях располагаются рядом с NR2B субъединицами НМДА глутаматных рецепторов. При активации IL-1R1 в нейронах гиппокампа происходит тирозинкиназное фосфорилирование НМДА рецепторов, возрастают амплитуды токов при активации НМДА рецепторов и поступление Ca2+ в цитоплазму нейронов. Это приводит к повышению возбудимости нейронов (судороги) и их эксайтотоксическим повреждениям [41]. Параллельно с этим происходит ослабление фосфорилирования и снижение плотности в постсинаптических мембранах нейронов ГлуА1 субъединицы АМРА глутаматных рецепторов, хотя ФНО повышает в мембранах нейронов коры плотность АМРА рецепторов, не содержащих ГлуА2 субъединицу и проницаемых для Ca2+ [97] . В срезах гиппокампа мышей установлено, что ИЛ-1 усиливает фазическое и тоническое торможение активности нейронов, опосредуемое соответственно ГАМКА рецепторами, содержащими альфа2/3- и альфа5-субъединицы [210], и с этим, вероятно, связаны энцефалопатии и нарушения памяти при септических заболеваниях.

В срезах гиппокампа активация IL-1R1 вызывала усиление кальций-зависимого базального высвобождения глутамата, но угнетала вызываемое деполяризацией высвобождение медиатора. Системное введение липополисахарида или внутрижелудочковое введение ИЛ-1 существенно повышали внеклеточный уровень глутамата и продукцию гидроксильных радикалов в сосудистом органе конечной полоски [102]. Внеклеточный уровень глутамата также повышается ФНО путем усиления его высвобождения из микроглии и астроцитов. В микроглии цитокин усиливает экспрессию глутаминазы, которая трансформирует глутамин в глутамат. В астроцитах

эффект ФНО сопровождается активацией индуцибельной циклоксигеназы-2, образованием простагландина E2 и мобилизацией Ca2+ из внутриклеточных хранилищ [102].

Фоновый нормальный уровень цитокинов в мозге необходим для реализации основной формы синаптической пластичности – длительной потенциации, поскольку у мышей с делецией IL-1R1 нарушены синаптическая пластичность и пространственная память [38]. В тоже время, у животных с избыточной экспрессией IL-1R1, либо после системного введения ИЛ-1, ИЛ-6 или ФНО наблюдали угнетение экспрессии длительной потенциации и гиппокамп-зависимых форм памяти [187].

При хронических воспалительных заболеваниях нарушается функциональная активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, результатом чего является усиление секреции глюкокортикоидов и развитие глюкокортикоидной резистентности [187]. ФНО вызывает активацию микроглии, привлекает лейкоциты к эндотелиальным клеткам сосудов мозга, которые нарушают ДА-ергическую нейропередачу [187]. Провоспалительные цитокины вызывают относительный дефицит тетрагидробиоптерина, используемого в биосинтезе норадреналина, ДА и 5-НТ [208]. Нарушение биосинтеза моноаминов нейронами среднемозговых и стволовых структур, а также ослабление влияний моноаминергических нейронов на лимбические структуры мозга в условиях хронического воспаление вносит свой вклад в развитие депрессии. Противовоспалительные средства могут снижать уровень депрессивности у больных с соматическими заболеваниями и усиливать действие антидепрессантов у больных депрессией. Действительно, назначение нестероидных противовоспалительных средств больным остеоартритом существенно понижали уровень депрессии на протяжении 6 недель. С другой стороны, серотонинергические антидепрессанты угнетали продукцию провоспалительного цитокина ИЛ-6, но стимулировали образование противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-1РА [43].

Ряд заболеваний – сахарный диабет второго типа, тучность, ИБС, СПИД и др. – характеризуются наличием системного хронического воспаления низкой интенсивности. Депрессивная симптоматика часто сопутствует таким заболеваниям. Помимо цитокинов и других продуктов воспаления в развитие депрессии в этих ситуациях вовлечен фермент индол-2,3-диоксигеназа (ИДО), который шунтирует путь превращения триптофана в серотонин (5-ГТ), способствуя конвертации триптофана в кинуренин [64]. Так системное воспаление, вызванное однократной инъекцией липополисахарида усиливает экспрессию в мозге ИДО, причем пиковый уровень наблюдали через 24 часа, а возвращение к базальному уровню через 36 часов; возникающее при этом депрессивно-подобое поведение наблюдали в течение 72 часов [200]. При хроническом воспалении, вызванном введением ослабленной микобактерии туберкулеза (БЦЖ) активность ИДО существенно возрастала только через неделю после введения и рост активности ИДО, повышение уровня кинуренина в мозге и депрессивный фенотип поведения наблюдали в течение нескольких месяцев [156]. Помимо того, что повышение активности ИДО приводит к снижению уровня и биодоступности 5-ГТ, образующийся при этом кинуренин обладает выраженным продепрессивным действием [156]. Об этом свидетельствуют исследования, в которых установили, что вызываемое БЦЖ хроническое воспаление приводит к развитию депрессивного фенотипа поведения, но при этом в мозге мышей не наблюдали существенных изменений уровней 5-ГТ и его основного метаболита – 5-гидроксииндол-3-уксусной кислоты [156].

Биотрансформация образовавшегося в мозге кинуренина идет по нескольким направлениям. При участии фермента кинуренин аминотрансферазы кинуренин трансформируется в кинуреновую кислоту. Ферменты кинурениназа и кинуренин-3-гидроксилаза трансформируют кинуренин соответственно в антраниловую кислоту и 3-гидроксикинуренин. Два последних метаболита могут превращаться в 3-гидроксиантраниловую кислоту, а последняя при

участии оксигеназы 3-гидроксиантраниловой кислоты превращается в хинолиновую кислоту. Ряд метаболитов кинуренина являются нейроактивными – 3-гидроксикинуренин, кинуреновая, антраниловая и хинолиновая кислоты – и оказывают выраженное влияние на глутаматергическую нейропередачу [200]. Хинолиновая кислота является высокоактивным эндогенным агонистом НМДА глутаматных рецепторов и ее накопление в мозге приводит к генерации свободных радикалов (O_2^- и NOO^-) и эксайтотоксическим и оксидативным повреждениям нейронов и глии [212].

Таким образом, подобно воздействию хронического стресса острое и хроническое воспаление вызывают функциональные и морфологические изменения деятельности нейронов лимбических структур мозга. Функциональные нарушения обусловлены преимущественно образованием и высвобождением провоспалительных цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО. Цитокины активируют рецепторы, которые экспрессируют в нейронах и глиальных клетках, и запускаемые этим процессы трансдукции изменяют возбудимость нейронов, релейные и пластические свойства глутаматергических синапсов в нейронных сетях лимбической системы. Вызываемое цитокинами нарушение обмена триптофана приводит к образованию активных агонистов глутаматных НМДА рецепторов и активных форм кислорода, которые приводят к эксайтотоксическим и оксидативным морфологическим нарушеним.

Если воздействие хронического стресса и воспаления, вызывающее нарушения нейропластичности и синаптической пластичности, а также развитие эксайтотоксических и оксидативных повреждений нейронов лимбических структур, которые играют существенную роль в патогенезе депрессии, то антидепрессанты должны изменять эти процессы. Если в развитии депрессии существенную роль играют нарушения нейропластичности, приводящие к когнитивным нарушениям, то антидепрессанты могут их ослаблять. В ранних исследованиях трудно было оценить влияние антидепрессантов на нарушения памяти и других когнитивных процессов у больных депрессией, поскольку

антидепрессанты этого периода, особенно трициклические, обладали угнетающей когнитивные процессы М-холиноблокирующей активностью. При использовании лишенных антихолинергической активности антидепрессантов выявлено улучшение вербальной памяти у больных депрессией [82]. В доклинических исследованиях на животных установлено, что антидепрессанты при хроническом введении обращают вызываемые стрессом нарушения когнитивных процессов. Это обусловлено рядом механизмов. Прежде всего, вещества с антидепрессивной активностью усиливают встраивание ГлуА1 и ГлуА2 субединиц глутаматных AMPA рецепторов в постсинаптическую мембрану, либо повышают хемосенситивность этих рецепторов за счет фосфорилирования их внутриклеточных доменов [71]. Как отмечалось ранее, хронический стресс ослабляет глутаматергическую нейропередачу в ПФК и гиппокампе за счет сниижения плотности глутаматных AMPA рецепторов. Неконкурентный блокатор НМДА глутаматных рецепторов кетамин, который в субнаркотических дозах оказывает выраженное и быстро развивающееся антидепрессивное действие, одновременно снижает активацию внесинаптических НМДА рецепторов, ослабляет ГАМКергическое торможение и повышает активность глутаматергических синапсов в коре, усиливает экспрессию BDNF и оптимизирует нейропластические процессы [162].

Антидепрессанты разных функциональных групп при хроническом введении стимулируют сигнальный путь цАМФ. В нейронах гиппокампа и ПФК выявлено повышение уровня ГТФ-зависимого белка Gαs и усиление образования цАМФ. Это сопровождалось возрастанием активности протеинкиназы А (ПКА) как во фракции микротрубочек, так и ядре [197]. В этих же условиях, наблюдали повышение уровней мРНК и иммунореактивности фактора транскрипции CREB в гиппокампе. Кроме того, в ядрах нейронов установлено усиление фосфорилирования и повышения активности указанного фактора транскрипции [197].

Установлено, что при хроническом введении различных антидепрессантов происходит усиление экспрессии кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы (CAMKII), повышение ее ферментативной активности и фосфорилирования в синаптических везикулах в гиппокампе и ПФК, но снижение фосфорилирования фермента в пре- и постсинаптических мембранах. Это приводит к уменьшению пресинаптического высвобождения, в частности вызванного деполяризацией, глутамата [48].

Данные о влиянии антидепрессантов на митоген-активируемые протеинкиназы (MAPK) противоречивы. С одной стороны, установлено, что хроническое введение антидепрессантов разных групп повышают в гиппокампе и ПФК уровень MAPK ERK1 и ERK2. С другой стороны, показано, что хроническое введение флуоксетина понижало уровень ERK1/2 в цитозольной и ядерной фракциях гиппокампа и ПФК, а имипрамин повышал уровень протеинкмгаз только в ПФК [197]. Хроническое введение антидепррессантов усиливало экспрессию нейротрофина BDNF в гиппокампе и ПФК; другие классы психофармакологических средств экспрессию этого нейротрофина не изменяли. Этот эффект антидепрессантов заслуживает внимания, поскольку хронический стресс понижает уровень BDNF в этих структурах лимбической системы. Однако влияние хронического введения антидепрессантов на экспрессию BDNF в других структурах лимбической системы (миндалина, прилежащее ядро, ВТО) существенно отличается от описанного выше [73].

Антидепрессанты оптимизируют глутаматергическую нейропередачу в лимбической системе в отличие от хронического стресса, который при воздействии на глутаматергическую систему вызывает атрофические изменения и даже гибель нейронов. Хроническое введение антидепрессантов может изменять конформацию и субъединичную композицию глутаматных НМДА рецепторов, угнетать экспрессию мРНК отдельных субъединиц этих рецепторов [158]. Флуоксетин при систематическом введении усиливал фосфорилирование и функциональную активность глутаматных AMPA рецепторов.

Противоэпилептические средства с антидепрессивной активностью ламотригин и рилузол при хроническом введении усиливают экзоцитоз и повышают плотность AMPA рецепторов в синапсах [71, 216]. Позитивные аллостерические модуляторы AMPA рецепторов демонстрируют антидепрессивную активность [71]. Наконец, вещества блокирующие преимущественно внесинаптические и мало влияющие на синаптические НМДА глутаматные рецепторы в клинических и экспериментальных условиях обнаруживают быструю антидепрессивную активность [162].

Несмотря на то, что в экспериментальных условиях антидепрессанты демонстрируют приближаюшиеся к почти идеальным нейромодулирующие характеристики, их клиническая эффективность менее впечатляющая. Действительно, первичное назначение антидепрессантов, эффективность которых была доказана в доклинических и клинических исследованиях, предполагает достижение в течение 3–4 недель терапии уровня лекарственного ответа 50–75%. Из этого следует, что от 25 до 50% пациентов попадают в группу разнородных состояний, определяемых как «депрессии, резистентные к терапии» [36]. Сегодня не существует общепринятого определения феномена лекарственной резистентности. В большинстве своем использование этого термина подразумевает отсутствие удовлетворительного ответа на лечение.

Различают несколько вариантов резистентности к антидепрессантам.

1. Первичная (истинная) терапевтическая резистентность. Считается, что такая резистентность связана с изначально плохим влиянием на состояние пациента и неблагоприятным течением заболевания. В основе этой формы резистентности вероятно лежит преимущественно необратимые или малообратимые морфологические дефекты структур лимбической системы. Встречается у 10 – 18 % больных.

2. Вторичная терапевтическая резистентность (относительная резистентность). Данный вид резистентности связан со снижением терапевтической эффективности психотропных лекарств вследствие адаптации

организма к действию лекарств и уменьшения либо плотности молекулярных мишеней антидепрессантов, либо усиления их элиминации. Наблюдается у 15 – 17 % больных.

3. Псевдорезистентность. Этот вид резистентности истинной резистентностью не является и связан либо с неадекватной или недостаточно интенсивной психофармакотерапией, которая проводится без учета характера психопатологической симптоматики и степени ее тяжести, ведущего психопатологического синдрома и нозологии, а также без учета сопутствующих заболеваний.

4. Отрицательная терапевтическая резистентность (или интолерантность). В этом случае речь идет о повышенной чувствительности больного к развитию побочных эффектов психотропных лекарств.

Резистентность больных к терапии антидепрессантами может усиливаться за счет наличия сосудистых, эндокринных заболеваний, органических поражений мозга, во время инволюционного периода. Эффективность терапии антидепрессантами снижается при затяжном или хроническом типе течения депрессивного синдрома с циркулярностью в ремиссиях и медленно нарастающей прогредиентностью с формированием «депрессивного стиля жизни» [7].

Коррекция резистентности к антидепрессантам является достаточно сложной задачей. Наиболее часто предлагается применение комбинированной терапии с добавлением или еще одного антидепрессанта («двойная терапия»), либо препарата из другой группы, усиливающего эффект основного антидепрессанта (усиленная терапия, аугментация). При двойной терапии к ранее применяемому добавляют другой антидепрессант, причем механизм действия последнего по возможности не должен перекрываться с механизмом действия первого. Например, можно комбинировать селективные ингибиторы обратного захвата серотонина или ингибиторы обратного захвата норадреналина и серотонина с миртазапином [7]. Тем не менее, эта эмпирическая практика не

получила широкого распространения. Усиленная терапия подразумевает добавление другого вещества, которое само по себе не используют в качестве специфического средства для лечения депрессии, но способно усилить действие принимаемого антидепрессанта. Одними из первых в качестве средств, усиливающих действие антидепрессантов использовали препараты лития. Сигнальные пути, индуцируемые в нейронах литием, отличаются от таковых, вызываемых антидепрессантами. Если в основе действия основных классов антидепрессантов лежит активация сигнального пути аденилатциклаза - цАМФ – ПКА, то литий способствует либо угнетению биосинтеза фосфолипидов, либо угнетает активность киназы-3 гликогенсинтетазы. Эти сигнальные пути обеспечивают усиление серотонинергической нейропередачи и при вовлечении гипофиза повышают продукцию кортикотропина и гидрокортизона. Имеются данные, что после добавления препаратов лития в течение двух суток у 60 – 70 % больных с резистентностью проявлялось антидепрессивное действие. Помимо препаратов лития для усиления действия антидепрессантов используют также противоэпилептические средства – вальпроат натрия, ламотригин и карбамазепин, а также атипичные антипсихотики – оланзапин и респиридон [11]. Из многообразия фактов, касающихся действия препаратов лития и антиконвульсантов на субклеточном, клеточном и системном уровнях, особого внимания заслуживает их церебропротективное действие. Действительно, на культивируемых нейронах коры и мозжечка установлено, что воздействие лития предотвращало эксайтотоксический апоптоз нейронов, вызываемый N-метил-D-аспартатом [58]. Важно, что нейропротективное действие лития требует присутствия его в среде на протяжении 5 – 6 дней. Эксайтотоксичность вовлечена в вызываемую стрессом атрофию гиппокампа, в ишемический инсульт, боковой амиотрофический склероз, дегенерацию мозжечка и др. При моделировании ишемического инсульта введение лития до или после процедуры ишемизации уменьшало объем инфаркта мозга и неврологические дефициты у крыс [58]. Хроническое введение лития или натрия вальпроата вызывало

увеличение объема субгенуального отдела ПФК у больных почти до уровня здоровых людей, хотя у не леченных больных с нарушениями настроения объем этого отдела ПФК был уменьшен ~ на 40 % по сравнению со здоровым контролем. Более того, стабилизаторы настроения в комбинации с прпаратами базовой терапии вызывали больший прирост объема ПФК по сравнению только с базовой терапией [70]. Интересно также, что хроническое, но не однократное введение лития и натрия вальпроата у экспериментальных животных вызывало уменьшение времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания, но уменьшали двигательную активность в открытом поле [70].

Таким образом, анализ литературных источников позволяет сделать следующие выводы:

1. В прижизненных и посмертных исследованиях мозга больных разными формами депрессии выявлены атрофические повреждения, о чем свидетельствует уменьшение объема серого и белого вещества различных структур лимбической системы.

2. Моделирование депрессивного фенотипа поведения у экспериментальных животных стрессогенными воздействиями и хроническим воспалением – факторами, которые усугубляют течение депрессивного синдрома, выявляет функциональные и мофологические нарушения лимбических структур мозга. Последние проявляются уменьшением объема нейронов, укорочением дендритов, уменьшением плотности дендритных шипиков.

3. Функциональные и нейроатрофические повреждения лимбических структур у экспериментальных животных, вызываемые воздействием хронического стресса и хроническим воспалением, обусловлены эксайтотоксическим действием возбуждающих аминокислот, повышением уровня глюкокортикоидов и угнетением экспрессии нейротрофинов и факторов роста, оксидативным стрессом и перекисным окислением липидов.

4. В экспериментальных условиях хроническое введение антидепрессантов ослабляет или обращает действие всех факторов, приводящих к появлению функциональных и нейроатрофических повреждений лимбических структур у животных, следствием которых является развитие депрессивного фенотипа поведения. Однако клиническая эффективность разных классов антидепрессантов не превышает 50 – 75 %. Следовательно, у 25 – 50 % больных имеют место резистентные к терапии антидепрессантами формы депрессии.

5. В клинических условиях эмпирически разработаны методы усиления действия антидепрессантов для преодоления резистентности. Суть этих методов заключается в комбинированном назначении классических антидепрессантов и препаратов лития или антиконвульсантов. Препараты лития и противосудорожные средства не обладают истинной антидепрессивной активностью, но им присуща выраженная церебропротективная активность в разнообразных моделях повреждения мозга.

6. В свете вышеизложенного несомненный интерес представляют исследования влияния веществ с выраженным церебропротективным действием, которые либо давно используются в клинических условиях при повреждениях мозга (типа пирацетама), либо недавно синтезированные, на вызванную хроническим стрессом или воспалением поведенческую депрессию и эффекты антидепрессантов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 260 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 Донецкого медицинского национального университета им. М. Горького (протокол № 7 от 15 ноября 2016 г.).

2.1 Поведенческие исследования

Для оценки эмоциональных и мотивационных составляющих целостных поведенческих актов исследовали поведение животных в условиях вынужденного плавания, для выявления эмоциональных нарушений – ангедонии - использовали тест предпочтения сахарозы [10, 19].

2.2 Исследования уровня депрессивности.

Уровень депрессивности животных определяли по общепринятой методике, теста вынужденного плавания, разработанной Порсолтом [165]. Крыс помещали в аквариумы высотой 50 см, заполненные водой на 2/3 высоты; с температурой воды 22-25°С. 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, передние лапы были прижаты к груди, задние вытянуты. Регистрировали продолжительность иммобилизации в секундах на протяжении последних 180 с сеанса вынужденного плавания продолжительностью 300 с.

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 [165], в исследованиях использовался именно этот показатель .

2.3 Исследование нарушений системы вознаграждения

Характеризующий гедоническое поведение крыс тест предпочтения сахарозы, отражающий пищевое вознаграждение, реализовали по методу Benelli A., et al. [45]. Для этого в первые сутки крыс помещали в индивидуальные клетки с двумя поилками, заполненными 1% раствором сахарозы. Следующие сутки в одной поилке была вода, а в другой – раствор сахарозы. 23 часа третьих суток животных подвергали пищевой и водной депривации, а затем на 60 мин. в клетку возвращали предварительно взвешенные 2 поилки, заполненные водой и раствором сахарозы. По истечению часа поилки взвешивали. В последующие 2 часа четвертых суток животные получали пищу и воду, после чего на 21 час их лишали пищи и воды. Затем опять на 1 час возвращали поилки и определяли (%) предпочтения потребления раствора сахарозы (П), который определяли по формуле:

П = вес потребленного раствора сахарозы/вес потребленной жидкости x *100%*

Эту же процедуру повторяли на 10-й и 20-й дни после прекращения плавательного стресса и подкожного введения флогогена – уксусной кислоты.

2.4 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 [14], 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, соединеный с входом дифферециального 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 оцифровывания фиксируется на жестком магнитном диске персонального компьютера. Стимуляция синаптических входов осуществляется с помощью электронного стимуляторного устройства 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.

2.4.1 Приготовление срезов.

Крыс наркотизировали кетамином внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг и подвергали декапитации. После этого вскрывали череп и из него извлекали головной мозг, который тот час охлаждали раствором для препарования, следующего состава в мМ: сахароза – 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 ° С. Срезы мПФК выделяли из переднего полюса, а ДГ – из заднего полюса мозга. Соответствующие блоки мозга фиксировали с помощью цианакрилового клея и агарового блока на площадке вибратома (Campden Instruments). Последняя находилась в ванночке заполненной охлажденным и насыщенным карбогеном (смесь 95 % O_2 и 5 % CO_2) раствором для препарирования. С помощью вибратома готовили продольные срезы мозга, содержащие прелимбическую и инфралимбическую 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. На рисунке 1 представлена схема установки для регистрации электрической активности нейронов исследуемых структур головного мозга. С помощью стеклянных микропипеток (6), заполненных раствором NaCl (2 М/л) внеклеточно регистрировали популяционные (п)ВПСП и спайки (пС) нейронов исследуемых структур головного мозга [14]. Фокальные потенциалы усиливали по переменному току усилителем УБФ–4 (7). Качество осциллограмм оценивали визуально на экране осциллографа С–69 (8). Далее фокальные ответы оцифровывали с помощью АЦП (9) и в цифровой и аналоговой формах сохраняли на жестком диске персонального компьютера (10).

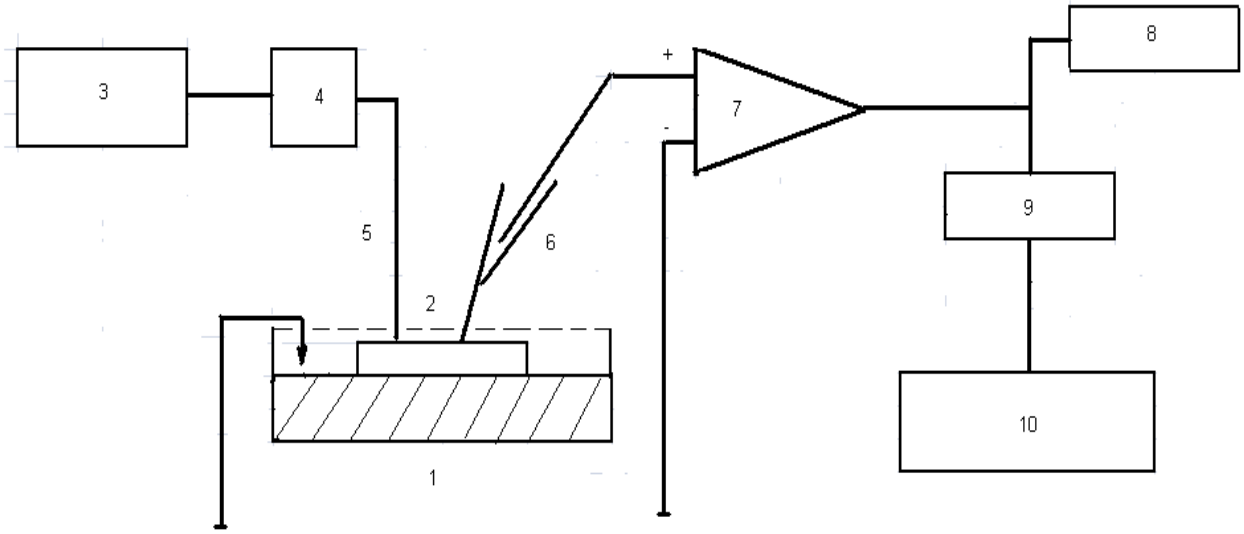

Рисунок 1 — Блок-схема электрофизиологической установки

1 – рабочая камера; 2 – срез мозга; 3 – стимулятор ЭСУ–2; 4 – изолирующий трансформатор; 5 – раздражающий электрод; 6 – отводящий микроэлектрод; 7 – усилитель переменного тока – один из каналов усилителя биопотенциалов УБФ–4; 8 – осциллограф С–69; 9 – 10-разрядный аналогово-цифровой преобразователь (АЦП); 10 — персональный компьютер Pentium III.

2.4.2 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 СА1 ДГ и V слоя мПФК (см. рис. 2)

Локализация раздражающих электродов и отводящих микроэлектродов в каждой конкретной ситуации имела свои особенности.

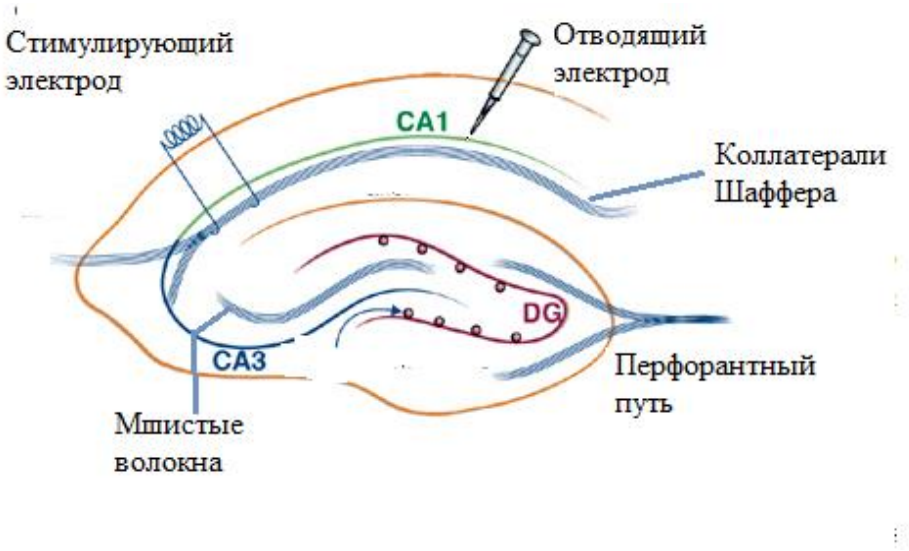

Рисунок 2 — Локализация стимулирующих и отводящих электродов в срезах ДГ.

Работая со срезами ДГ, отсекали область CA3 для предотвращения спонтанной судорожной активности. Биполярный нихромовый стимулирующий электрод с диаметром филаментов 0,1 мм и расстоянием между ними 0,1 мм 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 0,1 мс частотой 0,1 Гц для получения кривой зависимости амплитуды постсинаптических ответов от интенсивности пресинаптической стимуляции (см. рис. 3).

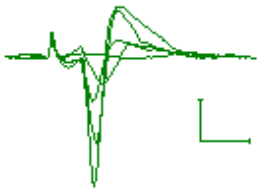

Рисунок 3 — Зависимость амплитуды пВПСП пирамидных нейронов области CA1 ДГ от интенсивности пресинаптической стимуляции. Интенсивность стимуляции возрастала с шагом в 5 В.

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 ко II/III слоям. При стимуляции проходящих во II/III слоях таламических афферентов в пирамидных нейронах V слоя мПФК регистрировали пВПСП, амплитуда которых почти линейно возрастала при увеличении интенсивности пресинаптической стимуляции (рис. 4).

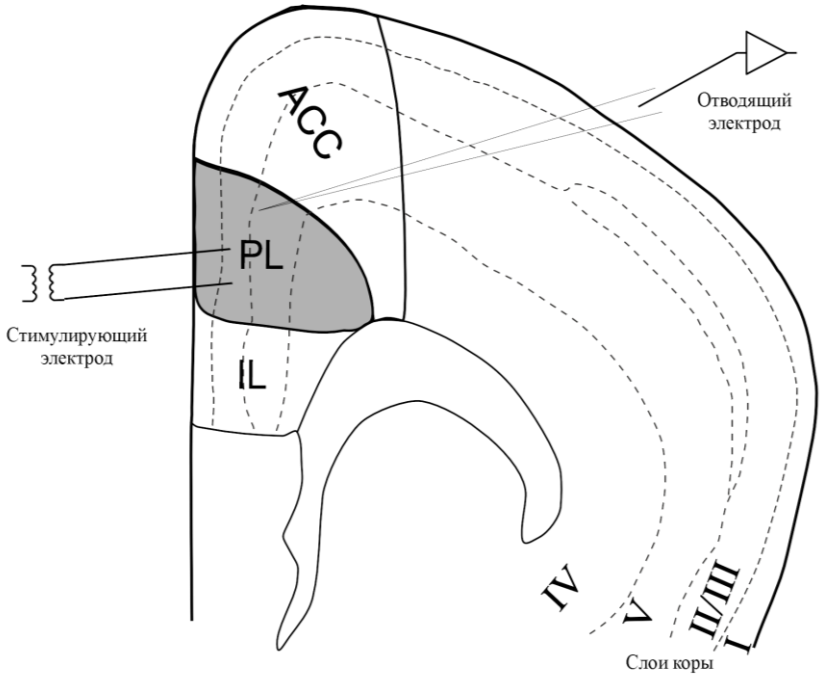

Рисунок 4 — Локализация стимулирующих и отводящих электродов в срезах прелимбического отдела (PL) мПФК.

В срезах ППК стимулирующий электрод располагали во II/III слоях передней поясной коры (ACC), а регистрирующий микроэлектрод локализовали в V слое коры ближе ко II/III слоям. При стимуляции проходящих во II/III слоях таламических афферентов в пирамидных нейронах V слоя мПФК регистрировали пВПСП, амплитуда которых почти линейно возрастала при увеличении интенсивности пресинаптической стимуляции (рис. 5).

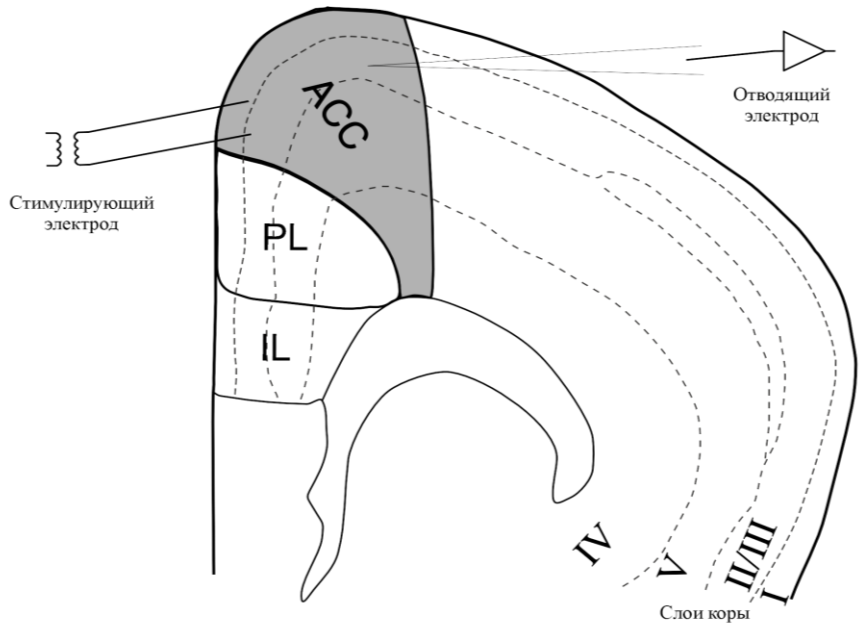

Рисунок 5 — Локализация стимулирующих и отводящих электродов в срезах передней поясной коры (ACC) мПФК.

Рисунок 6 — 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.

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 ко-агониста НМДА рецепторов глицина. АМРА компонент пВПСП пирамидных нейронов выделяли путем суперфузии срезов мозга раствором Кребса, содержащим конкурентный блокатор НМДА глутаматных рецепторов D-2-амино-5-фосфоновалериановую кислоту (D-AP5) в концентрации 50 мкМ.

Помимо этого, исследовали пластичность глутаматергических синапсов пирамидных нейронов V слоя мПФК – длительную потенциацию синаптической передачи. Длительную потенциацию вызывали четырехкратной с интервалом 10с тетанической стимуляцией таламических афферентов, проходящих во II/III слоях, частой 100 $с^{-1}$ длительностью 1 с; интенсивность стимуляции подбиралась таким образом, чтобы амплитуда пВПСП составляла ~ 1/3 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 парного облегчения. В этом случае синаптические входы стимулировали двумя импульсами с фиксированным межимпульсным интервалом (чаще 50 мс), регистрировали амплитуды двух последовательных пВПСП и определяли отношение второй к первой.

Если при изменении амплитуды наблюдаемого синаптического потенциала величина парного облегчения не изменялась, это указывало на постсинаптическую природу наблюдаемого изменения. Если же эта величина уменьшалась, это указывало на усиление пресинаптического высвобождения (см. рис. 7).

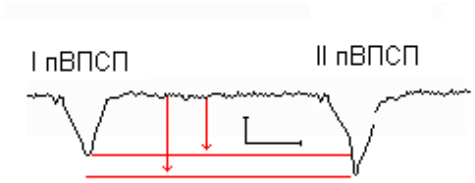

Рисунок 7 — Парное облегчение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов мПФК при межимпульсном интервале 50 мс. Калибровка: вертикальная 1 мВ, горизонтальная 10 мс.

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

2.4.3. Моделирование повреждений пирамидных нейронов гиппокампа

Эксайтотоксическое действие НМДА исследовали по методу, предложенному Liu Y., et al. [130]. Для этого на срезы гиппокампа воздействовали 50 мкМ НМДА в присутствии 1 мкМ глицина в течение 15 мин. После этого срезы переносили в инкубационную камеру, где они пребывали не менее 1 часа. В электрофизиологические исследования срезы брались через 1 час после прекращения действия НМДА. Аноксию и агликемию моделировали по методу Tian G. and Baker A. J. [196] – срезы помещали в камеру с атмосферой азота в раствор Кребса, где глюкоза была замещена эквивалентным количеством маннита на 7,5 мин при температуре 32 ° С. Затем срезы переносили в инкубационную камеру в аэрируемый раствор Кребса. В электрофизиологические исследования срезы брали через 1 час после прекращения процедуры аноксии и агликемии. Оксидативный стресс моделировали по методу de Almeida L. M., et al. [65], для чего на срезы

воздействовали H_2O_2 в концентрации 1 мМ в течение 30 мин. После чего срезы переносили в инкубационную камеру и через 1 час их брали в исследования.

2.5 Моделирование экспериментального депрессивного синдрома

2.5.1 Моделирование вызванного неизбегаемым плавательным стрессом депрессивного синдрома

Экспериментальный депрессивный синдром моделировали по методу Sun P, et al. [192] . Для этого крыс ежедневно на протяжении пяти дней помещали в воду 22-24 ° С на 10 минут после определения исходных показателей времени иммобилизации в тесте Порсолта и % предпочтения потребления раствора сахарозы по сравнению с водой. Через 10 и 20 суток после последнего сеанса плавания определяли параметры, характеризующие мотивационное и гедоническое поведение.

При воздействии неизбегаемого стресса в гиппокампе формируется «память отчаяния» (despair memory) в виде длительной потенциации синаптической передачи, которая сохраняется в течение 24 часов. При дальнейших воздействиях неизбегаемого стресса происходит генерализация этой памяти, обусловленная ее перемещением в корковые структуры. При этом утрачивается связь этой памяти с контекстом стрессогенного воздействия и любой даже нейтральный в эмоциональном плане раздражитель может вызвать воспроизведение информации, закодированной в этой памяти [81, 124,].

2.5.2 Моделирование вызванного хроническим воспалением депрессивного синдрома.

Хроническое асептическое воспаление у крыс вызывали по методу, предложенному Тринусом Ф. П. [22] . 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). Кровь для исследований брали из хвостовой вены. К проведению поведенческих исследований приступали на десятые и двадцатые сутки после введения крысам флогогенов.

2.5.3 Моделирование вызванной введением резерпина поведенческой депрессии

Обусловленную «вымыванием» моноаминов из тканей головного мозга поведенческую депрессию у крыс воспроизводили по методу, предложенному Машковским М. Д. и соавт. (1983). Крысам в/б вводили резерпин в дозе 1 мг/кг. Через сутки оценивали выраженность поведенческой депрессии по уровню птоза, выраженности гипокинезии в открытом поле, по степени снижения ректальной температуры. После оценки изменений поведения животных брали в электрофизиологические исследования.

2.6 Используемые фармакологические вещества

Для моделирования соматической патологии и выяснения нейрофизиологической и нейрохимической природы наблюдаемых поведенческих и нейрональных эффектов использовали следующие вещества: Резерпин (Gideon Richter, Венгрия) вводили внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг; декстран в виде препарата Полиглюкин (Красфарма, РФ), вводили внутрибрюшинно в дозе 200 мг/кг; антидепрессант, ингибитор обратного захвата норадреналина и серотонина Имипрамин (EGYS, Венгрия) вводили внутрибрюшинно в дозе 5 мг/кг и 20 мг/кг; церебропротектор (ноотроп) Пирацетам (НИКО, Украина) вводили внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг и 100 мг/кг; Диакамф ((±)цис-3-(2´-бензилмедазолил)-1,2,2- триметилцикло-пентан-карбоновая кислота) вводили внутрибрюшинно 5 и 10 мг/кг (предоставлен Национальным фармацевтическим университетом (НФаУ), Украина); соединения R-86 — производное 3,2’-спиро-пирроло-2-оксиндола вводили внутрибрюшинно 5 и 10 мг/кг (предоставлен НФаУ, Украина); 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 течени 20 мин, неконкурентный блокатор глутаматных НМДА рецепторов кетамин (Биолек, Украина), вводили внутрибрюшинно в дозе 5 мг/кг однократно, и 50 мг/кг однократно для анестезии.

2.7 Статистическая обработка результатов

Результаты исследований обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с помощью лицензионной программы «Medstat» [13, 15].

В работе использовались параметрические и непараметрические методы, с учетом предварительной проверки выборок на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Для выявления различий между выборками применяли t-критерий Стьюдента для парных сравнений и с поправкой Бонферрони – для множественных, критерии Краскела-Уоллиса с пост-хок тестом Данна, Манна–Уитни для множественных сравнений. Статистически достоверными различия считали при значимости $p<0,05$. Для оценки вероятных связей между церебропротективной и антидепрессивной активностью исследуемых веществ при поведенческой депрессии на двух разновидностях поведенческой депрессии использовали коэффициенты корреляций рангов по Спирмену.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕКТРОВ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗУЧАЕМЫХ ВЕЩЕСТВ.

В данном разделе в опытах на переживающих суперфузируемых срезах дорсального гиппокампа крыс мы исследовали спектры церебропротективной активности диакамфа гидрохлорида, соединения R-86, позитивных референтных препаратов сравнения пирацетама и кетамина и негативного референтного препарата дексаметазона по способности этих веществ противодействовать повреждающим воздействиям на синаптическую передачу между коллатералями Шаффера (аксоны пирамидных нейронов области CA3) и дендритами пирамидных нейронов области CA1 в радиальном слое гиппокампа. В качестве повреждающих воздействий мы использовали суперфузию срезов гиппокампа раствором Рингера, который насыщали газовой смесью 95 % N_2 + 5 % CO_2, а глюкоза в растворе была заменена эквивалентным количеством маннита (процедура аноксии/нейроагликемии), в течение 7,5 мин при температуре 32° С. Следующее повреждающее воздействие - глутаматная эксайтотоксичность, которую воспроизводили путем воздействия на срезы гиппокампа 50 мкМ аналога возбуждающего медиатора аспартата N-метил-D-аспарагиновой кислоты (НМДА) и 1 мкМ глицина в течение 15 мин. Наконец, повреждение нейронов гиппокампа активными формами кислорода (оксидативный стресс) осуществляли воздействием на срезы содержащего 1 мМ H_2O_2 (донор кислорода) раствора Кребса на протяжении 30 мин. Результаты повреждений и их изменений исследуемыми веществами оценивали через 60 мин после прекращения повреждающего воздействия и суперфузии срезов в течение этого времени нормальным насыщенным карбогеном раствором Кребса. Исследуемые вещества вводили в/б в соответствующих дозах на протяжении 10 дней, а

контрольные животные получали равный объем растворителя. На 11-й день животных использовали для электрофизиологических исследований.

Это проиллюстрировано на следующем примере (см. рис. 8).

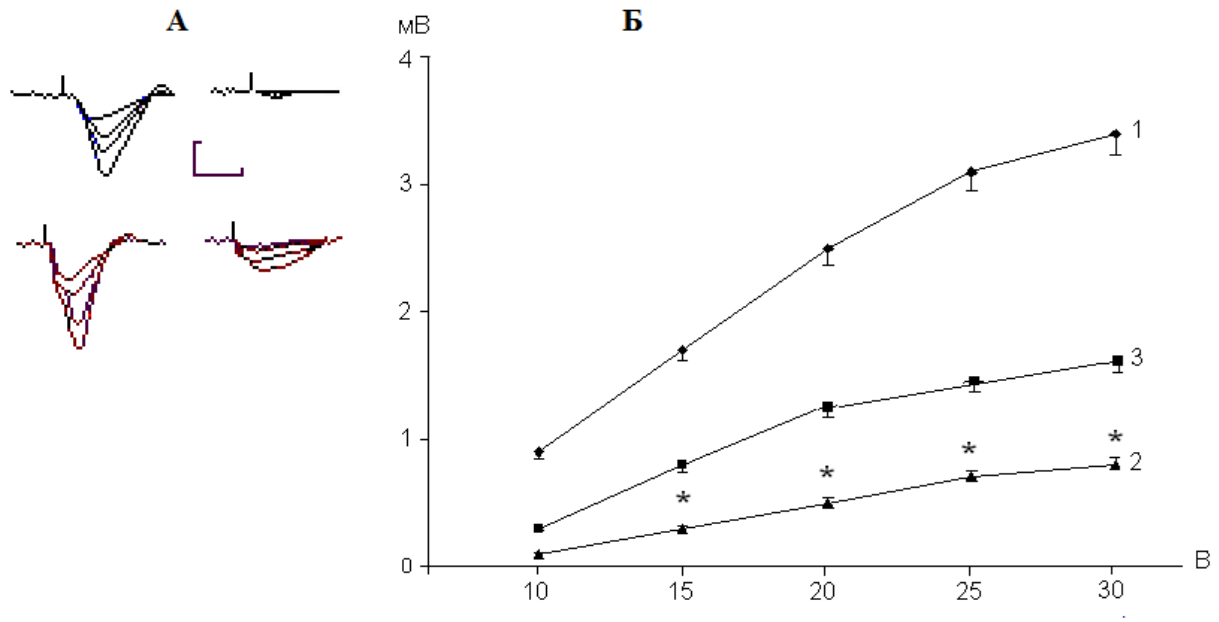

Рисунок 8 - Влияние системно вводимого в дозе 10 мг/кг диакамфа в течение 10 дней на вызываемые процедурой аноксии и агликемии повреждения пирамидных нейронов обасти CA1 гиппокампа.

А - образцы пВПСП полученные в индивидуальных опытах на отдельных срезах гиппокампа контрольных (верхний ряд) и опытных крыс (нижний ряд) до (слева) и после воздействия (справа) процедуры аноксии/агликемии. Калибровка: 1 мВ, 10 мс.

Б - 1 – усредненная амплитуда пВПСП в контрольных срезах; 2 – тоже через 1 час после прекращения действия аноксии и агликемии на срезы мозга крыс, которым вводили растворитель; 3 – амплитуда пВПСП в срезах мозга крыс, которым вводили диакамф.

* - различия достоверно значимы при $P < 0,05$.

Поскольку основная функция нейронов – генерация синаптических потенциалов и потециалов действия, причем обычно повреждающие воздействия в большей степени нарушают возникновение и распространение потенциалов действия по сравнению с синаптическими потенциалами - о повреждении нейронов гиппокампа мы судили по снижению амплитуд синаптических потенциалов. Если же исследуемое вещество уменьшало степень угнетения синаптических потенциалов повреждающей процедурой, то это мы считали проявлением его церебропротективной активности.

Из рис. 8 видно, что воздействие на срезы гиппокампа процедуры аноксии/агликемии в течение 7,5 мин вызывало повреждение нейронов гиппокампа, о чем свидетельствует снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов более чем на 90 %. Эта же процедура, воздействующая на срезы гиппокампа крыс, которым на протяжении 10 дней вводили диакамф, в меньшей степени повреждала пирамидные нейроны, поскольку амплитуда пВПСП в этих условиях возросла почти до 30 %. Эти результаты могут быть расценены, как проявление церебропротективного (антианоксического) действия диакамфа.

3.1 Исследования церебропротективной активности диакамфа

Диакамф – (±)-цис-3-(2´-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой кислоты гидрохлорид синтезирован под руководством профессора Мерзликина С. И. в Харьковском национальном фармацевтическом университете в процессе направленного поиска фармакологических веществ с церебропротективной активностью.

Вначале у диакамфа гидрохлорида (в дальнейшем диакамф) была выявлена экспериментальная терапевтическая активность при моделировании инсулин-независимого сахарного диабета. В последующих исследованиях была выявлена церебропротективная активность данного препарата. Действительно, диакамф повышал выживаемость животных и улучшал функциональное состояние мозга при острой церебральной ишемии, в том числе на фоне сахарного диабета, а также при травматических повреждениях мозга и при алкогольной интоксикации [29, 30]. Диакамф оказывал антигипоксический эффект, увеличивал объемную скорость мозгового кровотока в условиях постишемической реперфузии, стимулировал церебральный энергетический метаболизм, уменьшал оксидативный стресс и ослаблял процессы нейродеструкции, в том числе апоптоз [28, 29, 30]. Выдвинута гипотеза, согласно которой механизм действия диакамфа связывают с активацией имидазолиновых рецепторов второго типа [28]. Совершенно очевидно, что такие представления о механизме действия диакамфа не в состоянии дать рациональные объяснения природы различных его эффектов.

Суперфузия срезов гиппокампа раствором Кребса, содержащим диакамф в концентрациях эквивалентным дозам 3, 10 и 30 мг/кг in vivo (13, 43 и 130 мкМ) в течение 15 мин, не влияла на амплитуды комплексных пВПСП пирамидных нейронов, вызываемые электрической стимуляцией коллатералей Шаффера возрастающей интенсивности. При воздействии на срезы мозга диакамфа в концентрациях 43 и 130 мкМ наблюдали укорочение продолжительности комплексных пВПСП, при этом их амплитуда не изменялась, но спад комплексных пВПСП протекал более быстро.

Поскольку укорочение продолжительности комплексных пВПСП может быть обусловлено угнетением амплитуд их НМДА компонентов, либо усилением ГАМКергического торможения, вызывающего шунтирование пВПСП, решено проверить эти возможности. Утановлено, что диакамф в исследуемых концентрациях не оказывал влияния на НМДА компоненты пВПСП. В более

высоких концентрациях диакамф вызывал укорочение продолжительности и НМДА компонентов пВПСП. Диакамф в концентрации, соответствующей дозе 10 мг/кг in vivo, не оказывал влияния на вызываемое 1 мМ ГАМК угнетение амплитуды антидромных популяционных спайков пирамидных нейронов. Следовательно, вызываемое диакамфом укорочение длительности пВПСП не связано с влиянием вещества ни на НМДА, ни на ГАМК рецепторы. Не исключено, что этот эффект связан с активацией имидазолиновых рецепторов пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа и повышением калиевой проводимости.

В исследованиях на переживающих срезах гиппокампа установлено, что предварительное воздействие диакамфа в концентрации 43 мкМ не оказывало существенного влияния на вызываемое НМДА эксайтотоксическое повреждение пирамидных нейронов. При воздействии на срезы гиппокампа процедуры аноксии и агликемии при 32º С в течение 7,5 мин наблюдали повреждение нейронов гиппокампа, судя по уменьшению амплитуд пВПСП, которые достоверно не изменялись при воздействии на срезы 43 мкМ диакамфа. Умеренную, но достоверную церебропротективную активность диакамф в концентрации 43 мкМ обнаруживал при воздействии на срезы мозга, подвергнутые действию оксидативного стресса, вызываемого добавлением в среду обитания срезов 1 мМ H_2O_2.

Диакамф при однократном в/б введении не изменял амплитуду пВПСП пирамидных нейронов. Однако, при систематическом в течение 10 дней введении диакамф вызывал увеличение амплитуд пВПСП и их НМДА компонентов в среднем ~ на 20 % преимущественно за счет пресинаптического действия, поскольку при этом снижалась величина парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс – 176,0 ± 12,4 % в контроле и 134,2 ± 11,7 % при хроническом воздействии диакамфа.

Иные результаты получены при внутрибрюшинном введении диакамфа крысам в дозе 10 мг/кг напротяжении 10 дней до электрофизиологических исследований. В этом случае диакамф существенно ослаблял вызываемые оксидативным стрессом и процедурой аноксии/агликемии угнетение синаптической активности пирамидных нейронов гиппокампа (табл. 1). Действительно, диакамф при системном введении увеличивал сниженную воздействием оксидативного стресса амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа от 0,52 ± 0,11 мВ до 1,56 ± 0,23 мВ (P = 0,0002). Также сниженная аноксией и агликемией амплитуда пВПСП под действием диакамфа возрастала (табл. 1) от 0,24 ± 0,07 мВ до 0,74 ± 0,16 мВ (P = 0,0001).

Таблица 1 - Влияние хронически вводимого диакамфа в дозе 10 мг/кг на вызываемое повреждающими воздействиями угнетение синаптической активности пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа.

Повреждающее воздействие	Амплитуда субмаксимальных пВПСП (мВ)		
	Контроль	После повреждающего воздействия	После применяемого воздействия на фоне диакамфа
НМДА + глицин	3,27 ± 0,31	1,12 ± 0,24*	1,29 ± 0,23
Оксидативный стресс (H_2O_2)	3,44 ± 0,33	0,52 ± 0,11*	1,56 ± 0,23#
Аноксия и агликемия	2,91 ± 0,27	0,24 ± 0,07*	0,74 ± 0,16#

* - изменения достоверны относительно интактной группы при p<0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни; # - изменения достоверны относительно группы с контрольным повреждающим воздействием при p<0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

В тоже время, при системном введении диакамф не оказывал влияния на вызываемое НМДА эксайтотоксическое повреждение нейронов. Таким образом, результаты этих серий исследований указывают на наличие

церебропротективного действия у диакамфа. Это действие проявляется выраженным ослаблением функциональных повреждений пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа, вызываемых как аноксией и последующей реперфузией срезов оксигенированным раствором Кребса, так и оксидативным стрессом, однако на вызываемую возбуждающими аминокислотами эксайтотоксичность препарат влияния не оказывал (табл. 1).

3.2 Исследования церебропротективной активности соединения R-86

Соединение R-86 – производное 3,2'-спиро-пирроло-2-оксиндол – синтезировано в Харьковском национальном фармацевтическом университете канд. фарм. наук Редькиным Р. Г. В исследованиях на экспериментальных животных установлено, что соединение R-86 при системном (внутрижелудочном) введении в дозе 10 мг/кг в условиях моделирования ишемического инсульта in vivo демонстрировало церебропротективную активность, которая проявлялась способностью снижать активность фермента нейрон-специфической энолазы и уровень белка S 100 в плазме крови гербелл – показателей ишемического повреждения нейронов и глиальных клеток. В этих же условиях соединение R-86 уменьшало титр кортизола в оттекающей от мозга крови в сагиттальном синусе и снижало уровень фрагментации ДНК в ядрах нейронов лобных долей гербелл [5, 6, 31]. Этот компонент церебропротективной активности производного оксиндола связывают с тем, что глюкокортикоиды оказывают морфогенетическое влияние на функциональную активность нейронов, приводящее к нарушению высшей нервной деятельности и поведения [135].

Воздействие на срезы гиппокампа соединение R-86 в концентрации 100 мкМ, которая с учетом молекулярной массы вещества соответствует системно вводимой дозе 10 мг/кг, вызывало недостоверную тенденцию (~ 13 %; P > 0,05) к снижению амплитуды субмаксимальных пВПСП пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа. При этом исследуемое производное оксиндола не оказывало влияния на величину парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс. Это указывает на отсутствие влияния соединения R-86 на пресинаптическое высвобождение глутамата. В тоже время, в концентрации 100 мкМ соединение R-86 вызывало статистически значимое снижение (на 23 %; P = 0,001) амплитуды фармакологически изолированного НМДА компонента пВПСП. Эти данные указывают на то, что соединению R-86 присуща умеренно выраженная активность антагониста НМДА глутаматных рецепторов. Однако при хроническом внутрибрюшинном введении препарата крысам в течение 10 дней наблюдали увеличение амплитуд субмаксимальных комплексных пВПСП пирамидных нейронов (на 18 %; P = 0,02), которое сопровождалось уменьшением величины парного облегчения от 171,5 ± 8,3 % в контроле до 141,4 ± 6,4 % при хроническом воздействии соединения R-86. Это указывает на то, что наблюдаемый эффект обусловлен хотя бы частично усилением пресинаптического высвобождения глутамата.

То, что исследуемое производное оксиндола обладает свойствами антагониста НМДА глутаматных рецепторов, подтверждается данными, представленными в таблице 2. Так, через 1 час после прекращения действия НМДА на срезы гиппокампа амплитуда пВПСП у контрольных животных снижалась до 46 % от исходной; в тоже время, воздействие на срезы гиппокампа крыс, которым вводили соединение R-86, в течение 15 мин НМДА и глицина и часового периода после прекращения этого действия эксайтотоксическое действие аминокислоты ослаблялось (P = 0,0048) ~ на 20 % (табл. 2).

Помимо умеренно выраженной способности ослаблять эксайтотоксическое повреждение пирамидных нейронов, соединение R-86 обладает отчетливой

антиоксидантной активностью. Воздействие на срезы гиппокампа H_2O_2 в концентрации 1 мМ в течение 30 мин вызывало повреждение пирамидных нейронов, которое проявлялось снижением амплитуд пВПСП. Вызываемое оксидативным стрессом повреждение пирамидных нейронов существенно ослаблялось у крыс, которым системно вводили соединение R-86, на что указывает (табл. 2) увеличение амплитуд пВПСП до 85 % (P = 0,004) против 53 % в контроле.

Таблица 2 - Влияние соединения R-86 на вызываемое различными экспериментальными воздействиями повреждения пирамидных нейронов области CA1 при системном введении крысам.

Повреждающее воздействие	Амплитуда субмаксимальных пВПСП (мВ)		
	Контроль	После повреждающего воздействия	После применяемого воздействия на фоне R-86
НМДА + глицин	3,21± 0,31	1,48 ± 0,11*	2,07 ± 0,16#
Оксидативный стресс (H_2O_2)	2,90 ± 0,27	1,55 ± 0,12*	2,46 ± 0,22#
Аноксия и агликемия	3,34 ± 0,30	0,33 ± 0,07*	При воздействии R-86 на срезы 0,60 ± 0,12
Аноксия и агликемия при системном введении вещества	3,03 ± 0,29	0,34 ± 0,06*	0,85 ± 0,06#

* - изменения достоверны относительно интактной группы при p<0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни; # - изменения достоверны относительно группы с контрольным повреждающим воздействием при p<0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Наиболее жесткое повреждение пирамидных нейронов области CA1 вызывает длящаяся в течение 7,5 мин при 32˚ С процедура аноксии и агликемии – модель ишемического инсульта in vitro. В этих условиях амплитуда пВПСП исследуемых нейронов катастрофически снижалась до 10 % от исходной (табл.

2). Добавление в омывающий срезы гиппокампа оксигенированный содержащий глюкозу раствор Кребса соединения R-86 вызывало недостоверную (P > 0,05) тенденцию к увеличению амплитуды пВПСП (табл. 2). Следовательно, вещество R-86 не проявляет церебропротективного действия при аноксических повреждениях гиппокампа in vitro.

Однако при системном внутрибрюшинном введении R-86 в дозе 10 мг/кг перед электрофизиологическими исследованиями выявлена умеренная нейропротективная активность данного вещества в условиях аноксического повреждения гиппокампа. Действительно, как следует из табл. 19, в этих условиях амплитуда пВПСП пирамидных нейронов увеличивалась до 28 % по сравнению с 11% у животных, которым вводили растворитель (P = 0,027). Таким образом, как при воздействии на срезы мозга, так и при системном введении (в отличие от диакамфа, у которого церебропротективная активность проявлялась только при системном введении) препарат проявлял церебропротективную активность, которая обусловлена ослаблением глутаматной эксайтотоксичности, антиоксидантным, и умеренным антианоксическим действием.

3.3 Исследования церебропротективной активности позитивных референтных препаратов пирацетама и кетамина.

Церебропротективная активность пирацетама достаточно хорошо исследована [9, 21]. В этом разделе мы исследовали проявления церебропротективной активности пирацетама на срезах гиппокампа исключительно для сравнения с активностью диакамфа и соединения R-86.

В срезах мозга крыс которые на протяжении 10 дней получали пирацетам в дозе 100 мг/кг степень угнетения амплитуд пВПСП при воздействии на срезы гиппокампа процедуры аноксии/нейроагликемии не превышала 75 % по сравнению с 91 % (0,58 ± 0,13 мВ против 0,27 ± 0,05 мВ) угнетения в гиппокампе животных, которым вводили растворитель (табл. 3).

Таблица 3 - Влияние хронически вводимого пирацетама в дозе 100 мг/кг на вызываемое повреждающими воздействиями угнетение синаптической активности пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа.

Повреждающее воздействие	Амплитуда субмаксимальных пВПСП (мВ)		
	Контроль	После повреждающего воздействия	После применяемого воздействия на фоне пирацетама
НМДА + глицин	3,10 ± 0,33	1,08 ± 0,07*	1,29 ± 0,11#
Оксидативный стресс (H_2O_2)	3,16 ± 0,31	0,48 ± 0,10*	1,44 ± 0,21#
Аноксия и агликемия	2,67 ± 0,29	0,27 ± 0,05*	0,58 ± 0,13#

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни; # - изменения достоверны относительно группы с контрольным повреждающим воздействием при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Результаты этой серии показывают, что пирацетам в условиях хронического введения умеренно повышает устойчивость тканей мозга к повреждающему действию аноксии и дефицита глюкозы. Также в умеренной степени пирацетам в условиях хронического введения ослаблял эксайтотоксическое повреждение пирамидных нейронов гиппокампа, вызываемое воздействием на срезы мозга НМДА в концентрации 50 мкМ в течение 15 мин. Как следует из таблицы 3 через 1 час после прекращения действия на срезы мозга крыс, которые получали растворитель, амплитуда пВПСП пирамидных нейронов снижалась почти на 60 %. В то же время, в срезах мозга крыс, которым хронически вводили пирацетам в дозе 100 мг/кг эта

экспериментальная процедура достоверно (P < 0,05) в меньшей степени - на 44 % - снижала амплитуду пВПСП пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа (табл. 3).

Воздействие на срезы мозга H_2O_2 в концентрации 1 мМ в течение 30 мин сопровождалось образованием активных форм кислорода, которые индуцировали реакции перекисного окисления липидов и вызывали повреждение пирамидных нейронов. Действительно, через 1 час после прекращения действия H_2O_2 амплитуда пВПСП пирамидных нейронов крыс, которым вводили растворитель, снижалась на 77 % (до 0,48 ± 0,10 мВ). В то же время, воздействие H_2O_2 на срезы мозга крыс, которым хронически вводили пирацетам в дозе 100 мг/кг, сопровождалось меньшим повреждением пирамидных нейронов – амплитуда пВПСП снижалась на 49 % до 1,44 ± 0,21 мВ (P < 0,05). Следовательно, пирацетам ослабляет повреждающее действие оксидативного стресса на мозг подобно классическим антиоксидантам.

Кроме того, пирацетам оказывает непосредственное влияние на глутаматергическую синаптическую передачу в гиппокампе. Как следует из таблицы 4, пирацетам в концентрации 1 мМ при однократном воздействии на срезы мозга в течение 30 мин вызывал увеличение субмаксимальных амплитуд пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа, вызываемых пресинаптической стимулцией такой интенсивности, до 2,02 мВ против 1,65 мВ в контроле (p < 0,05).

Поскольку высвобождающийся из пресинаптических терминалей глутамат активирует постсинаптические AMPA и НМДА рецепторы, ВПСП пирамидных нейронов имеет два компонента, которые можно выделить с помощью конкурентных блокаторов рецепторов. Оказалось, что пирацетам повышает хемосенситивность постсинаптических AMPA рецепторов и не оказывает влияния на постсинаптические НМДА рецепторы (табл. 4). Дополнительно на то, что пирацетам действует именно на постсинаптические AMPA рецепторы,

указывает отсутствие изменений величины парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс. Изменение этого показателя характеризует изменения пресинаптического высвобождения глутамата. Увеличение этого показателя указывает на пресинаптический, а отсутствие изменений на постсинаптическй локус действия исследуемых веществ. Следовательно, помимо церебропротективного действия пирацетам обладает свойствами потенциатора АМРА рецепторов – АМРАкина.

Таблица 4 - Изменения амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов, их компонентов и величны парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс при однократном воздействии на срезы гиппокампа пирацетама в концентрации 1 мМ и хроническом системном введении в дозе 100 мг/кг.

Регистрируемый показатель	Контроль	Однократное воздействие 1 мМ пирацетама на срезы	Системное введение пирацетама 100 мг/кг 10 дней
Комплексныый пВПСП	1,65 ± 0,08 мВ	2,02 ± 0.11 мВ*	2,35 ± 0.13 мВ*
АМРА компонент пВПСП	1,23±0,06	1,59 ± 0,07 мВ*	1,37 ± 0,05 мВ*
НМДА компонент пВПСП	0,54 ± 0,04 мВ	0,60 ± 0,05 мВ	0,74 ± 0,06 мВ*
Парное облегчение	176,0 ± 12,4 %	169,4 ± 13,1 %	127,0 ± 10,2 %*

* - величины достоверно отличаются от контроля при $P < 0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

В качестве другого позитивного референтного препарата мы использовали неконкурентный неизбирательный блокатор НМДА глутаматных рецепторов кетамин. В доклинических и клинических условиях установлено, что ослабляющие ионофорную функцию глутаматных НМДА рецепторов конкурентные и неконкурентные блокаторы этих рецепторов обладают церебропротективной активностью при при разнообразных повреждениях головного мозга [99, 141, 147].

В соответствии с данными литературы мы использовали демонстрирующую быстрое антидепрессивное действие субанестетическую дозу препарата 5 мг/кг [46], которую вводили крысам внутрибрюшинно за 1 час до электрофизиологических исследований. Кетамин в условиях системного введения обнаруживал умеренную антиэксайтотоксическую активность. Действительно, на фоне системного введения кетамина крысам амплитуда комплексных пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа достоверно ($P < 0,05$) возрастала до 1,92 ± 0,14 мВ против 1,16 ± 0,12 мВ у крыс, которым вводили растворитель (табл. 5). Системное введение кетамина крысам приводило к умеренному ослаблению на 32 % повреждения пирамидных нейронов гиппокампа, вызываемого оксидативным стрессом (табл. 5). Наконец на фоне системного введения кетамина крысам наблюдали повышение устойчивости пирамидных нейронов гиппокампа к повреждающему действию процедуры аноксии/нейроагликемии, о чем свидетельствует достоверное возрастание амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов до 0,61 ± 0,05 мВ против 0,26 ± 0,03 мВ у крыс, которым вводили растворитель (табл. 5).

Таблица 5 - Влияние кетамина на вызываемое различными экспериментальными воздействиями повреждения пирамидных нейронов области CA1 при системном введении крысам.

Применяемые воздействия	Амплитуда субмаксимальных пВПСП (мВ)		
	Исходная	После повреждающего воздействия	После повреждающего воздействия на фоне кетамина
НМДА + глицин	2,74± 0,25	1,16 ± 0,12*	1,92 ± 0,14#
Оксидативный стресс (H2O2)	3,04 ± 0,28	1,61 ± 0,13*	2,12 ± 0,18#
Аноксия и агликемия	2,92 ± 0,26	0,26 ± 0,03*	0,61 ± 0,05#

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни; # - изменения достоверны

относительно группы с контрольным повреждающим воздействием при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

При воздействии кетамина на срезы гиппокампа интактных крыс выявлено его влияние на глутаматергическую синаптическую передачу между коллатералями Шаффера и дендритами пирамидных нейронов области CA1. Так, после воздействии на срезы гиппокампа раствора Кребса, содержащего 5 мкМ кетамина, в течение 60 мин амплитуда пВПСП пирамидных нейронов области CA1 достоверно возрастала до 122,1 ± 4,9 % по отношению к контролю (P=0,02). Эта концентрация приблизительно соответствует концентрации в крови препарата после системного его введения в дозе 5 мг/кг. Вызываемое кетамином возрастание амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов не сопровождалось увеличением амплитуд их НМДА компонентов; не измененялись величины парного отношения при межимпульсном интервале 50 мс – 1,75 ± 0,09 в контроле и 1,64 ± 0,09 в присутствии кетамина. Наблюдаемые изменения связывают со способностью кетамина стимулировать дендритную трансляцию ряда синаптических белков, в том числе ГлуА1 субъединицу AMPA глутаматных рецепторов и встраивание их в постсинаптическое уплотнение [227].

Таким образом, исследуемые фармакологические вещества диакамф и соединение R-86, как и позитивные референтные препараты пирацетам и кетамин обладают церебропротективной активностью, которая проявляется в разной степени выраженной у каждого препарата способностью уменьшать повреждение пирамидных нейронов гиппокампа эксайтотоксическим действием, депривацией кислорода и глюкозы, а также оксидативным стрессом.

3.4 Исследования влияния негативного референтного препарата дексаметазона на повреждения нейронов используемыми процедурами

При воздействии хронического стресса и на фоне ряда форм депрессии имеет место нарушение функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, сопровождаюшееся повышением уровней глюкокортикоидов как в плазме крови, так и в мозге. В обзоре литературы рассмотрено негативное влияние повышенных уровней глюкокортикоидов на лимбические структуры мозга. Это влияние провлялось уменьщением количества дендритных шипиков, ретракцией апикальных дендритов пирамидных нейронов, повышением глутамата во внеклеточных пространствах мозга до эксайтотоксического уровня, оксидативным стрессом [59, 113, 122, 129]. В этом разделе мы исследовали влияние синтетического аналога глюкокортикоидов дексаметазона, вводимого с питьевой водой в дозе 0,5 мг/кг на протяжении 2 дней, на вызываемые используемыми экспериментальными процедурами повреждения пирамидных нейронов дорсального гиппокампа.

Продолжительность воздействия дексаметазона подбиралась таким образом, чтобы глюкокортикоид не вызывал существенных нарушений синаптической передачи между нейронами гиппокампа. При двухдневном воздействии используемой дозы дексаметазона амплитуды комплексных пВПСП пирамидных нейронов, амплитуды опосредуемых активацией НМДА рецепторов компонентов пВПСП, а также величины парного отношения при межстимульном интервале 50 мс достоверных изменений не претерпевали. При увеличении продолжительности действия дексаметазона уже на 3-й – 4-й дни происходило существенное снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов и их НМДА компонентов.

Двухдневное воздействие дексаметазона на крыс в дозе 0,5 мг/кг существенно усиливало повреждающее действие используемых процедур на пирамидные нейроны области CA1 гиппокампа (см. табл. 6).

Таблица 6 - Влияние системно вводимого дексаметазона в дозе 0,5 мг/кг на вызываемое повреждающими воздействиями угнетение синаптической активности пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа

Повреждающее воздействие	Изменения амплитуд пВПСП (мВ)		
	Контроль	После повреждающего воздействия	То же на фоне пирацетама
Оксидативный стресс (H_2O_2 1 мМ)	2,73± 0,25	0,54 ± 0,05*	0,16 ± 0,04#
Аноксия и агликемия	2,94 ± 0,27	0,24 ± 0,04*	0#
НМДА 50 мкМ 15 мин	3,03 ± 0,35	0,98 ± 0,07*	0,27 ± 0,11#

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни; # - изменения достоверны относительно группы с контрольным повреждающим воздействием при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Так повреждающее влияние оксидативного стресса возрастало в 3,3 раза, на что указывает снижение амплитуд комплексных пВПСП до 0,16 ± 0,04 мВ против 0,54 ± 0,05 мВ у контрольных крыс (табл. 6). На фоне действия дексаметазона процедура аноксии/нейроагликемии полностью угнетала синаптическую передачу в радиальном слое области CA1 гиппокампа крыс (табл. 6). В 2,7 раза усиливалось эксайтотоксическое повреждение пирамидных нейронов гиппокампа в присутствии дексаметазона. На это указывает снижение амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов после воздействия НМДА до 0,27 ± 0,11 мВ против 0,98 ± 0,07 мВ у контрольных крыс (табл. 6).

Следовательно, воздействие высоких уровней глюкокортикоидов (в данном случае дексаметазона) ухудшает функциональное состояние нейронов

гиппокампа и существенно увеличивает их чувствительность к разнообразным повреждающим процедурам.

ГЛАВА 4. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ МЕДИАЛЬНОЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕПРЕССИВНОГО ФЕНОТИПА ПОВЕДЕНИЯ И ИХ ИЗМЕНЕНИЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИССЛЕДУЕМЫХ ВЕЩЕСТВ.

В медиальной префронтальной коре (мПФК) различают 4 области вдоль дорсовентральной оси: медиальная прецентральная область (ее иногда называют второй фронтальной областью – (Fr2), передняя поясная кора (ППК), прелимбическая кора (ПРК) и инфралимбическая кора (ИЛК). [98].

Локальная сеть мПФК на 80 – 90 % состоит из возбуждающих (глутаматергических) пирамидных нейронов, а остальные 10 – 20 % являются тормозными ГАМКергическими нейронами, которые подразделяются на несколько подтипов в зависимости от морфологических, физиологических и молекулярных особенностей [66]. В мПФК грызунов отсутствует входной IV слой. Афферентная информация поступает в I и II/III слои мПФК. Так, II слой ПЛК получает функциональные входы от контрлатеральной мПФК, срединного таламического и базолатерального ядер миндалины, вентрального гиппокампа. Эфферентные проекции мПФК происходят из глубоких V и VI слоев. Наблюдается дорсовентральное смещение проекций мПФК: аксоны пирамидных нейронов дорсальных отделов мПФК проецируют преимущественно к сенсомоторным структурам, а нейроны вентральных – преимущественно к лимбическим структурам (миндалины, прилежащее ядро, вентральный гиппокамп и др.) [128].

Одной из основных функций мПФК является поддержание бодрствующего сстояния мозга, контроль последовательности событий и реализация оперативной (рабочей) памяти. В процессе взаимодействия со структурами лимбической системы мПФК участвует в регуляции эмоций и настроения. Кроме

того, мПФК вовлечена в реализацию реакции привыкания, в обучение, регуляцию долгосрочной памяти и накопление жизненного опыта [39].

4.1 Функциональные нарушения в прелимбической коре при депрессивном синдроме

С появлением новых препаратов, эффективных при резистентных к действию традиционных антидепрессантов форм депрессии, таких как селективные и неселективные блокаторы НМДА глутаматных рецепторов, позитивные модуляторы AMPA глутаматных рецепторов, блокаторы и модуляторы метаботропных глутаматных рецепторов [63], стало очевидным, что нарушение глутаматергической синаптической передачи по крайней мере в лимбических, в том числе в кортикальных структурах является важным звеном в патогенезе депрессивного синдрома. В тоже время, сведения о характере изменений глутаматергической нейропередачи в префронтальной коре, полученные в клинических и экспериментальных условиях, достаточно противоречивы. С одной стороны, в клинических условиях получены данные, свидетельствующие о гиперактивности нейронов мПФК при униполярной депрессии [86, 101]. Однако в других исследованиях у больных униполярной депрессией выявлено ослабление возбуждающей нейропередачи в прелимбической коре (ПРК) [166]. Подобные изменения в ПРК грызунов были установлены при поведенческой депрессии, вызванной длительным хроническим стрессом [86]; более того, показано, что оптогенетическая стимуляция ПРК обладает антидепрессивым действием [60]; тем не менее, по данным других исследователей эта же процедура провоцирует поведенческую

депрессию [211, 220]. Клинические данные, свидетельствующие о глутаматергической гипоактивности ПФК, получены в посмертных препаратах мозга, т. е. после длительного течения заболевания; в экспериментальных условиях эти же изменения наблюдали после воздействия стресса в течение нескольких недель. Возможно, фактор времени может быть одной из причин противоречий. Другой источник наблюдаемых противоречий может быть связан с неодинаковыми реакциями популяций нейронов в разных слоях ПРК в ответ на депрессогенные воздействия.

В данном разделе исследования мы попытались выяснить нейрофизиологическую основу нарушения деятельности нейронов данного отдела коры, в условиях экспериментального депрессивного синдрома у крыс. Как хроническое воспаление, так и введение животным резерпина в дозе 1 мг/кг вызывали изменения поведения животных. О развитии депрессивного синдрома у крыс свидетельствуют результаты теста вынужденного плавания. Так у контрольных крыс время иммобилизации равнялось 125,3 ± 5,2 с. На 7-й день хронического воспаления время иммобилизации достоверно увеличилось до 221,4 ± 7,8 с ($P < 0,05$). Подобным образом через 24 часа после введения резерпина время иммобилизации в тесте форсированного плавания возросло до 244,6 ± 8,1 с ($P < 0,05$). В обоих случаях параллельно с ростом времени иммобилизации наблюдали укорочение времени активного плавания крыс и вскарабкивания животных на стенки емкости с водой. Второй критерий развития поведенческой депрессии – ангедония, которая проявлялась снижением предпочтения потребления раствора сахарозы до 54,0 ± 1,83 % и 50,2 ± 2,17 % на фоне хронического воспаления и резерпина соответственно против 79,4 ± 2,39 % в контроле ($P < 0,05$). Помимо этого, наблюдали возрастание уровня тревожности, судя по уменьшению пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта, и снижение общей двигательной активности в открытом поле.

Стратегия исследований сводилась к следующему. Если при развитии депрессивного фенотипа поведения будут выявлены изменения функциональной активности нейронов разных отделов ПФК, то надо решить имеют ли они отношение к изменениям поведения, или эти изменения неспецифические. Поскольку в основе депрессии лежат нейроатрофические процессы, то в том случае, если изменения активности нейронов будут ослабляться или обращаться антидепрессантами или церебропротепторами, то их можно расценивать как специфические, лежащие в основе депрессивного фенотипа поведения.

При электрической стимуляции поверхностных II/III слоев в выходных пирамидных нейронах V слоя ПРК регистрировали комплексные пВПСП, состоящие из АМРА и НМДА компонентов (Рис. 9, А). Амплитуда этих потенциалов линейно возрастала при увеличении интенсивности пресинаптической стимуляции. На фоне вызываемого хроническим воспалением поведенческой депрессии выявлено достоверное снижение субмаксимальных амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя (Рис. 9, Б) – 0,91 ± 0,09 мВ против 1,27 ± 0,07 мВ в контроле ($P < 0,05$). Это изменение обусловлено вероятно угнетением АМРА компонента – амплитуды данного компонента снизились до 0,73 ± 0,06 мВ против 1,02 ± 0,09 мВ в контроле ($P < 0,05$). Выявлена (Рисунок 9, Б) недостоверная тенденция к уменьшению амплитуд НМДА компонентов пВПСП пирамидных нейронов 5 слоя ПРК – 0,34 ± 0,03 мВ против 0,42 ± 0,03 мВ ($P = 0,053$) в контроле. Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПРК на фоне хронического воспаления имеет постсинаптическую природу. Действительно, как следует из рис. 9 отсутствует параллелизм в снижении амплитуд АМРА и НМДА компонентов пВПСП. Кроме того, величины парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс, изменения которых указывает на пресинаптическую природу, в контроле и на фоне хронического воспаления не отличаются – 156,8 ± 5,7 % и 148,4 ± 7,3 % соответственно ($P = 0,673$).

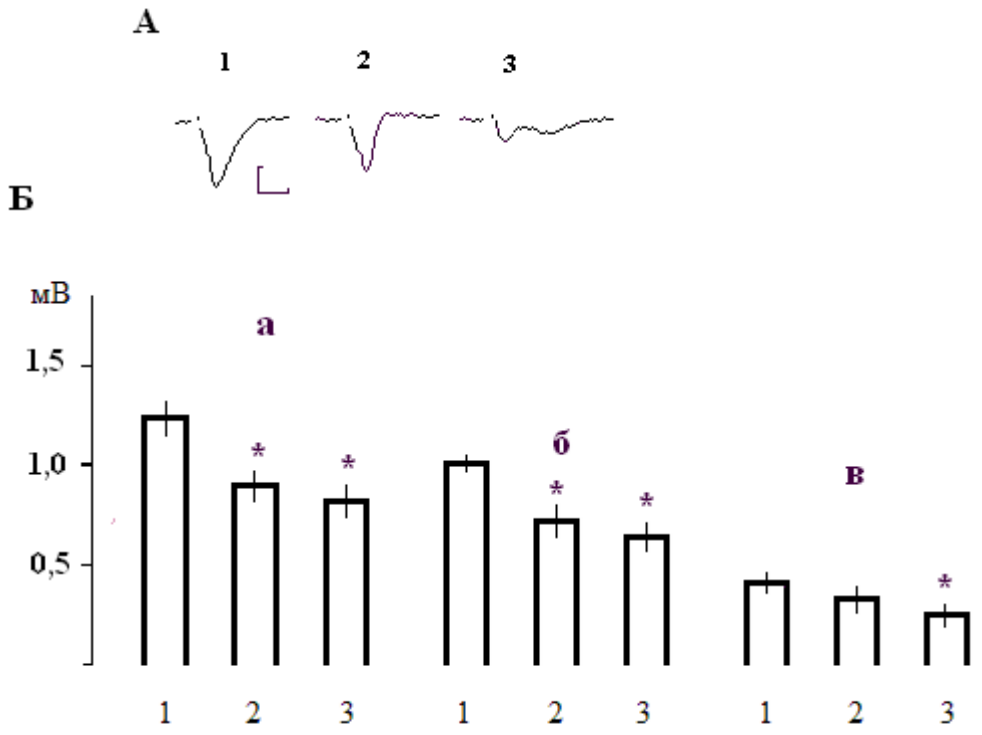

Рисунок 9 - Популяционные ВПСП пирамидных нейронов V слоя ПРК, их АМРА и НМДА компоненты и изменения синаптических потенциалов в условиях поведенческой депрессии.

А – образцы максимальных комплексных пВПСП (1), АМРА и НМДА компонентов пВПСП (2) и (3) соответственно, зарегистрированные в одном срезе.

Б – изменения амплитуд максимальных комплексных пВПСП (а), их АМРА (б) и НМДА (в) компонентов; 1 – контроль, 2 – на фоне хронического воспаления, 3 – на фоне действия резерпина.

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

Изменения релейных свойств синапсов пирамидных нейронов V слоя ПРК на фоне действия резерпина были такими же, как и в предыдущем случае. Как следует из рисунка 9, Б в этих условиях наблюдали снижение амплитуд комплексных пВПСП – 0,83 ± 0,07 мВ против 1,27 ± 0,07 мВ в контроле ($P < 0,05$); их АМРА компонентов – 0,65 ± 0,06 мВ против 1,02 ± 0,09 мВ в контроле ($P < 0,05$) и НМДА компонентов – 0,28 ± 0,03 мВ против 0,42 ± 0,03 мВ в

контроле (P < 0,05). Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов 5 слоя мПФК не сопровождалось изменениями величин парного облегчения - 156,8 ± 5,7 % в контроле и 144,2 ± 8,6 % на фоне резерпина (P = 0,731) – т. е. имело постсинаптическую природу.

Наряду с изменением релейных выявлено нарушение пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов II/III слоев ПРК (рис. 10).

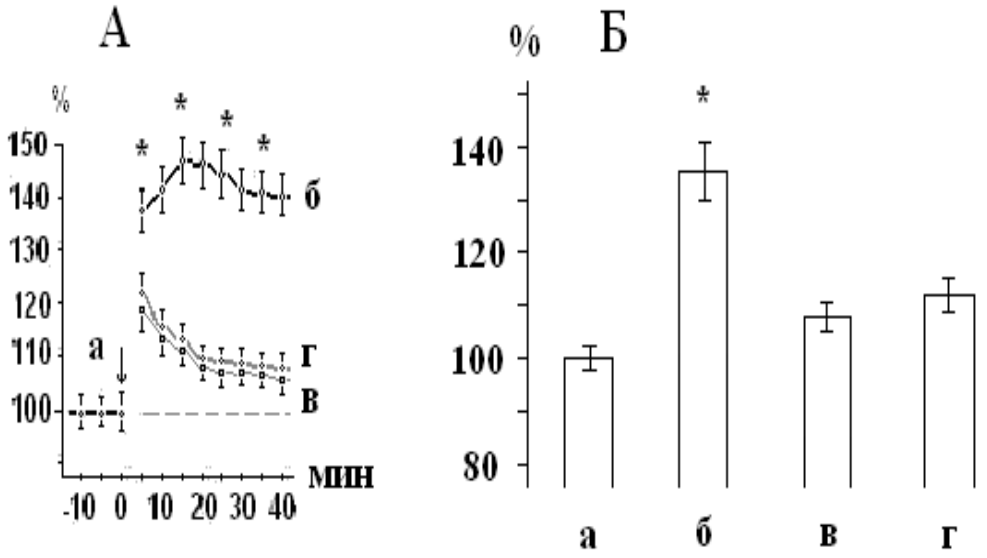

Рисунок 10 - Экспрессия длительной потенциации в синапсах пирамидных нейронов V слоя ПРК у контрольных крыс и животных с хроническим воспалением и после введения резерпина.

А – динамика изменений амплитуд пВПСП пирамидных нейронов V слоя после тетанической стимуляции) II/III слоев ПРК у контрольных крыс (б), у животных с хроническим воспалением (в) и после введения резерпина (г).

Б – амплитуды пВПСП на –10-й мин, а (контроль) и на 30-й мин после прекращения тетанической стимуляции – б, в и г – то же, что и на правой части рисунка.

Вертикальная шкала – изменения амплитуд пВПСП в %; горизонтальная – время в мин.

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

Образец динамики развития этого пластического феномена в пирамидных нейронах V слоя ПРК представлен на рис. 10. Пластические свойства глутаматергических синапсов пирамидных нейронов V слоя ПРК также претерпевали изменения на фоне поведенческой депрессии. У контрольных животных прирост амплитуд пВПСП на 30-й мин после прекращения тетанической стимуляции равнялся 35,4 ± 5,1 % (рис.10). На фоне хронического воспаления и действия резерпина эта величина достоверно ($P < 0,05$) уменьшалась до 8,2 ± 4,6 % и 12,6 ± 5,5% соответственно (рис. 10).

Что касается глутаматергических синапсов пирамидных нейронов поверхностных II/III слоев ПРК то их релейные свойства существенных изменений на фоне вызванного хроническим воспалением и действием резерпина депрессивного синдрома достоверных изменений не претерпевали. Однако их пластические свойства угнетались. Действительно, через 30 мин после прекращения серийной тетанической стимуляции синаптических входов амплитуда пВПСП пирамидных нейронов возрастала до 158,5 ± 6,4 %, в условиях же поведенческой депрессии на фоне хронического воспаления и действия резерпина прирост амплитуды пВПСП не превышал 112,3 ± 4,4 % и 117,6 ± 4,7 % соответственно.

Таким образом, можно предположить, что вызываемые хроническим воспалением и снижением уровней моноаминов в мозге угнетения релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных пирамидных нейронов V слоя и пластических свойств ассоциативных пирамидных нейронов II/III слоев ПРК приводят к развитию депрессивного фенотипа поведения. Однако это предположение нуждается в доказательствах.

4.2 Функциональные нарушения в передней поясной коре при депрессивном синдроме

Передняя поясная кора (ППК) расположена вокруг рострального отдела мозолистого тела. В соответствии с направлением проекций в ППК выделяют «аффективный» и «когнитивный» компоненты. Аффективный отдел ППК включает области 25, 33 по Brodman, ростральные отделы области 24, которые имеют широкие связи с миндалевидным комплексом, серым веществом периакведукта, моторными ядрами ствола мозга. Этот отдел ППК участвует в формировании эмоциональных состояний, в оценке мотивационного содержания и эмоциональной валентности внутренних и внешних стимулов, а также в экспрессии внутренних состояний. Когнитивный отдел ППК включает области 24' и 32' и регулирует ряд процессов, в первую очередь целенаправленное поведение [222].

При депрессивном синдроме существенно возрастает функциональная связь между ростральной ППК и миндалинами только во время негативных самооценочных процессов наряду со снижением структурных связей между этими образованиями [62]. Кроме того, при депрессии снижены функциональные связи между ростральной ППК и дорсолатеральной ПФК, между последней и дорсальной ППК, но существенно повышена функциональная связь между дорсальной и ростральной ППК [34]. Это повышает функциональную активность и препятствует деактивации ростральной ППК и миндалин, т. е. делает невозможной коррекцию негативных эмоциональных состояний.

В данном разделе исследования мы попытались выяснить нейрофизиологическую основу нарушения деятельности данного отдела коры. Одной из вероятных причин развития депрессивного синдрома на фоне

хронического воспаления или вымывания моноаминов из проекционных зон моноаминергических нейронов в лимбической системе под действием резерпина могут быть нарушения активности ППК, особенно ее пери- и субгенуального отделов, обусловленные изменениями релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов нейронов данного отдела коры. Как следует из рис. 11 в условиях хронического воспаления выявлены существенные изменения синаптической передачи в пирамидных нейронах поверхностных II/III слоев ППК.

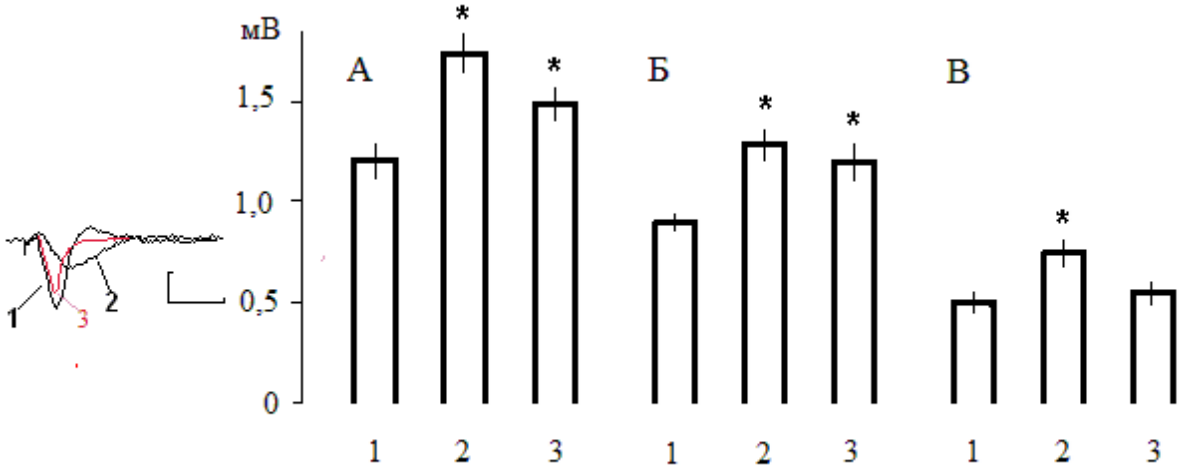

Рисунок 11 - Изменения амплитуд пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев ППК и их фармакологически изолированных АМРА и НМДА компонентов при разных формах поведенческой депрессии.

Слева образцы комплексного пВПСП (1) и его НМДА (2) и АМРА (3) компонентов, зарегистрированные в отдельных экспериментах. Калибровка: 0,5 мВ, 20 мс.

Справа усредненные пВПСП (А) и их АМРА (Б) и НМДА (В) компоненты в контроле (1), при вызванной воспалением (2) и действием резерпина (3) поведенческой депрессии.

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

В пирамидных нейронах поверхностных II/III слоев ППК выявлено тотальное усиление синаптической передачи, а именно возрастание амплитуд

как комплексных пВПСП, так и их АМРА и НМДА компонентов. Увеличение амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев переднего отдела ППК на фоне хронического воспаления сопровождалось снижением величин парного облегчения при межстимульном интервале 50 мс: у контрольных животных его величина составляла 141,7 ± 4,2 %, а на фоне хронического воспаления снижалась до 115,6 ± 3,4 % ($P < 0,05$). Известно, что уменьшение величин парного облегчения указывает на усиление пресинаптического высвобождения медиатора (глутамата) [163]. С другой стороны, не исключено, что усиление синаптической передачи в пирамидных нейронах II/III слоев ППК, помимо пресинаптического компонента, хотя бы частично, обусловлено повышением хемосенситивности постсинаптических глутаматных рецепторов.

На фоне дефицита моноаминов, вызываемого воздействием резерпина, также выявлены изменения релейных свойств пирамидных нейронов II/III слоев ППК (рис. 11). Это проявлялось достоверным ($P < 0,05$) возрастанием амплитуд комплексных пВПСП и их АМРА компонентов и недостоверной тенденцией к увеличению амплитуд НМДА компонентов пВПСП. Вызываемое резерпином увеличение амплитуд пВПСП нейронов II/III слоев ППК сопровождалось снижением величины парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс до 122,4 ± 3,6 % ($P < 0,05$).

На фоне вызываемого хроническим воспалением и действием резерпина депрессивного фенотипа поведения не выявлено достоверных изменений релейных свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов V слоя ППК.

Помимо изменения релейных свойств выявлены изменения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов ППК, судя по изменениям длительной потенциации (ДП) синаптической передачи. Серийная тетаническая стимуляция V слоя вызывала развитие ДП пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев ППК (рис. 12). Действительно, амплитуда пВПСП через 30

мин после прекращения тетанической стимуляции достоверно (P < 0,05) возрастала до 137,2 ± 6,4 % по отношению к контролю, принятому за 100 %.

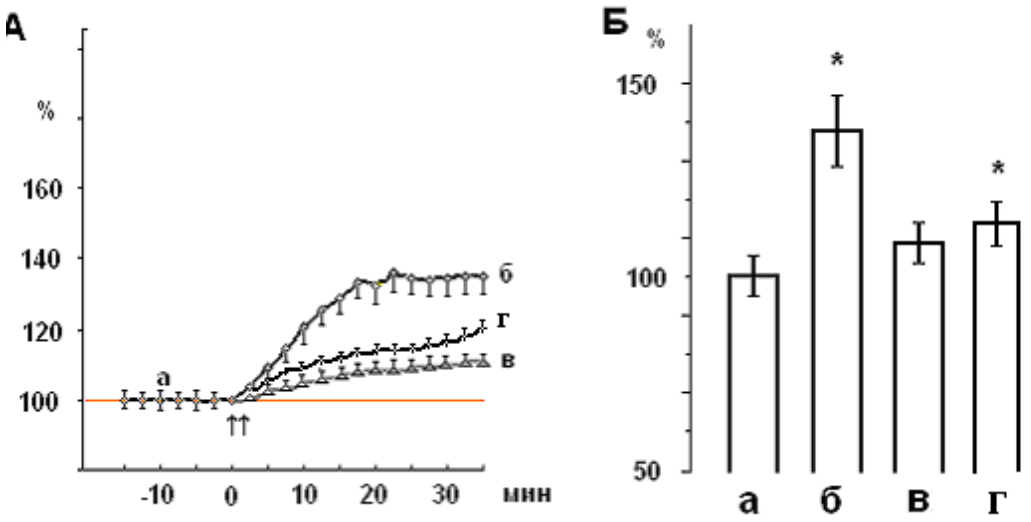

Рисунок 12 - Экспрессия длительной потенциации в синапсах пирамидных нейронов II/III слоев ППК у контрольных крыс и животных с хроническим воспалением.

А – динамика изменений амплитуд пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев до тетанической стимуляции (а), после тетанической стимуляции V слоя ППК у контрольных крыс (б), у животных с хроническим воспалением (в) и после введения резерпина (г).

Б – амплитуды пВПСП на 10-й мин, а (контроль) и на 30-й мин после прекращения тетанической стимуляции – б, в и г – то же, что и на правой части рисунка.

Вертикальная шкала – изменения амплитуд пВПСП в %; горизонтальная – время в мин.

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

В тоже время, тетаническая стимуляция V слоя ППК у крыс с вызванным хроническим воспалением депрессивным синдромом не вызывала развития ДП – на 30-й мин после ее прекращения амплитуда пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев составляла 109,6 ± 4,4 % (P = 0,43). На фоне воздействия резерпина

также наблюдали существенное угнетение экспрессии ДП в синапсах пирамидных нейронов II/III слоя – амплитуда пВПСП снижалась до 115,3 ± 4,5% (табл. 7). Выявлены также нарушения пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов V слоя ППК, проявляющиеся угнетением экспрессии ДП синаптической передачи. Действительно, как следует из таблицы 7 при обусловленном воспалением депрессивном фенотипе поведения ДП синаптической передачи не развивалась – амплитуда пВПСП на 30-й мин после тетанической стимуляции не превышала 106,3 ± 4,9 %, а у контрольных животных она возрастала до 142,7 ± 5,6 %. На фоне действия резерпина выявлено угнетение развития ДП синаптической передачи в синапсах пирамидных нейронов V слоя ППК, о чем свидетельствует уменьшение прироста амплитуд пВПСП до 122,4 ± 5,3% против 142,7 ± 5,6 % у контрольных животных (табл. 7).

Таблица 7 - Влияние хронического воспаления и воздействия резерпина на экспрессию длительной потенциации синаптической передачи в ППК.

Стимуляция слоев ППК	Изменения амплитуд пВПСП на 30-й мин после прекращения стимуляции		
	Контроль	Хроническое воспаление	Воздействие резерпина
Стимуляция V слой Отведение II/III слои	137,2 ± 6,4 %	109,6 ± 4,4 %*	115,3 ± 4,5 %*
Стимуляция II/III слои Отведение V слой	142,7 ± 5,6 %	106,3 ± 4,9 %*	122,4 ± 5,3% *

* величины достоверно отличны от контроля при P < 0,05.

Таким образом, воздействие процедур, приводящих к развитию депрессивного фенотипа поведения, вызывало нарушения релейных и пластических свойств пирамидных нейронов поверхностных и глубоких слоев ППК.

4.3 Влияние имипрамина и диакамфа на вызываемые хроническим воспалением и действием резерпина функциональные нарушения активности проекционных пирамидных нейронов прелимбической коры

При моделировании поведенческой депрессии, вызванной как хроническим воспалением, так и снижением уровней моноаминов в мозге, наиболее выражено снижение амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПЛК и угнетение развития длительной потенциации синаптической передачи. Тем не менее, остается не ясным связаны ли эти изменения с развитием депрессивного фенотипа поведения, либо они не имеют отношения к депрессивному синдрому. Представляется, что решить эту проблему можно возможно с помощью антидепрессантов. Если антидепрессанты ослабят нарушения релейных и пластических свойств пирамидных нейронов V слоя ПЛК, то данные нарушения обусловливают развитие поведенческой депрессии; если нет – то ответ отрицательный.

Воспроизведение используемых форм поведенческой депрессии на фоне хронического введения имипрамина ослабляло вызываемое хроническим воспалением и дефицитом моноаминов в мозге угнетение амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПЛК. Действительно, в этих условиях (рис. 13) воспаление снижало амплитуды потенциалов на 10,5 % (1,29 ± 0,05 мВ против 1,44 ± 0,06 мВ у контрольных животных), в то время как у животных, которым вводили растворитель эта величина составляла 26,7 % (1,01 ± 0,07 мВ против 1,37 ± 0,08 мВ). Введение резерпина снижало амплитуду комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПЛК у получавших имипрамин крыс на 16,5 % (1,20 ± 0,06 мВ против 1,44 ± 0,06 мВ), в то время как у контрольных крыс эта величина составляла 32,9 % (рис. 13).

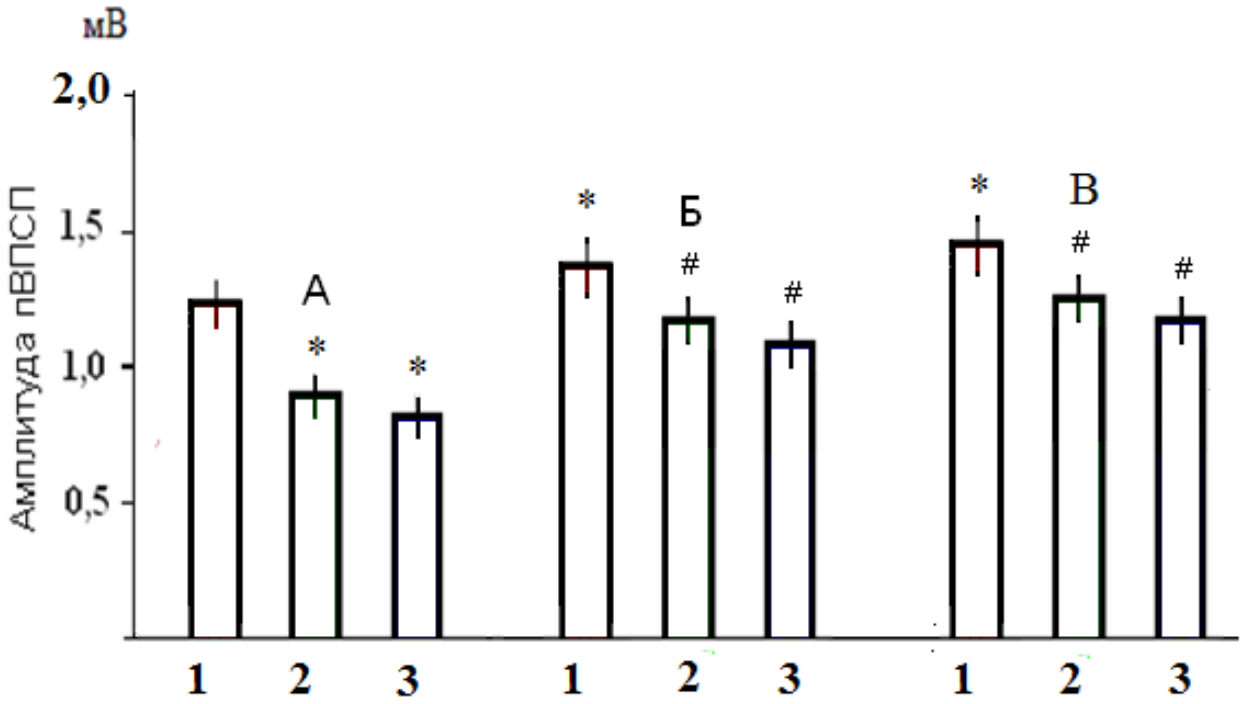

Рисунок 13 - Влияние хронического введения имипрамина и диакамфа на изменения амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПЛК, вызываемые воспалением и действием резерпина.

Группы животных, которым вводили растворитель (А), имипрамин 20 мг/кг 20 дней (Б), диакамф 10 мг/кг 20 дней (В).

1 – контроль, 2 – 7 дней после введения под кожу спины уксусной кислоты, 3 – через 24 часа после в/б введения 1 мг/кг резерпина.

По вертикальной щкале – амплитуда пВПСП в мВ.

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни; # - изменения достоверны относительно группы с контрольным повреждающим воздействием при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Хроническое введение обладающего церебропротективной активностью диакамфа в дозе 10 мг/кг также ослабляло вызываемые воспалением и резерпином повреждения пирамидных нейронов глубокого слоя ПЛК. Так, на

фоне диакамфа воспаление снижало амплитуду комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя на 14,0 % (1,29 ± 0,08 мВ против 1,50 ± 0,10 мВ), а у контрольных крыс на 26,7 % (рис. 13). Также хроническое введение диакамфа уменьшало негативное влияние резерпина на релейные свойства синапсов проекционных нейронов ПЛК. Действительно в соответствии с данными рисунка 13 на фоне используемого церебропротектора угнетение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПЛК уменьшалось до 20,7 % (1,19 ± 0,06 мВ против 1,50 ± 0,10 мВ у контрольных животных).

Хроническое введение крысам имипрамина и диакамфа ослабляло также повреждения пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов V слоя ПЛК, вызываемые воспалением и дефицитом моноаминов в мозге. Эти повреждения проявлялись угнетением экспрессии длительной потенциации (ДП) синаптической передачи.

Хроническое введение имипрамина восстанавливало способность синапсов V слоя ПЛК воспроизводить ДП синаптической передачи. Действительно, у получавших растворитель крыс на фоне воспаления на 30-й мин после прекращения серийной тетанической стимуляции синаптических входов не наблюдали достоверных изменений амплитуд пВПСП 106,3 ± 3,8 %. Однако у крыс, которым вводили имипрамин, в тех же условиях амплитуды пВПСП пирамидных нейронов достоверно ($P < 0,05$) возрастали до 127,6 ± 3,4 % (табл. 8).

Подобным образом на фоне хронического введения диакамфа частично восстанавливалась экспрессия ДП в синапсах пирамидных нейронов V слоя ПЛК у животных с воспалением. На 30-й мин амплитуда пВПСП возрастала до 119,8 ± 3,4 % против 106,3 ± 3,8 % у крыс которым вводили растворитель (табл. 8). Антидепрессант имипрамин и церебропротектор диакамф при хроническом введении ослабляли вызываемые резерпином повреждения пластических свойств глутаматергических синапсов ПЛК, увеличивая прирост амплитуд

пВПСП пирамидных нейронов V слоя соответственно на 34,4 ± 3,2 и 32,3 ± 3,0 % против 16,4 ± 3,4 % у крыс, которым вводили растворитель (табл. 8).

Таблица 8 - Влияние хронического введения имипрамина и диакамфа на развитие длительной потенциации синаптической передачи в ПЛК при вызванной воспалением и резерпином поведенческой депрессии.

Стимуляция слоев ПРК под действием препаратов	Изменения амплитуд пВПСП на 30-й мин после прекращения стимуляции		
	Контроль	Хроническое воспаление	Воздействие резерпина
Стимуляция II/III слои, отведение V слой. Контроль.	139,2 ± 3,6 %	106,3 ± 3,8 %*	116,4 ± 3,4 % *
Стимуляция II/III слои, отведение V слой. После хронического введения имипрамина.	151,2 ± 3,9 %	127,6 ± 3,4 %*	134,4 ± 3,2 % *
Стимуляция II/III слои, отведение V слой. После хронического введения диакамфа.	149,6 ± 3,8 %	119,8 ± 3,4 %*	132,3 ± 3,0 % *

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Таким образом, поскольку нарушения релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов ПЛК, вызываемые хроническим воспалением и дефицитом моноаминов в мозге под действием резерпина, ослабляются трициклическим антидепрессантом имипрамином можно думать, что эти функциональные нарушения ПФК имеют прямое отношение к развитию депрессивного фенотипа поведения крыс. С другой стороны, в связи с тем, что функциональные нарушения уменьшаются церебропротектором диакамфом, позволяет думать о нейроатрофической природе этих нарушений.

4.4 Влияние амитриптилина и соединения R-86 на вызываемые хроническим воспалением и действием резерпина функциональные нарушения активности пирамидных нейронов II/III слоев передней поясной коры

При моделировании депрессивного фенотипа поведения у крыс, вызываемого хроническим воспалением мягких тканей спины, выявлены функциональные повреждения ассоциативных пирамидных нейронов II/III слоев передней поясной коры (ППК), которые проявлялись ростом амплитуд комплексных пВПСП пирамиднх нейронов и их НМДА и АМРА компонентов, а также угнетением экспрессии ДП синаптической передачи. На фоне хронического, на протяжении 20 дней, введения трициклического антидепрессанта амитриптилина в дозе 20 мг/кг наблюдали редукцию нарушений релейных свойств пирамидных нейронов II/III слоев ППК. Действительно у крыс, которым вводили растворитель хроническое воспаление и воздействие резерпина вызывали достоверное ($P < 0,05$) увеличение амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов до 1,61 ± 0,07 мВ и 1,40 ± 0,06 мВ против 1,22 ± 0,04 мВ у контрольных крыс (рис. 14).

Если эти повреждающие нейроны воздействия воспроизводили на фоне хронического введения амитриптилина, то повреждения нейронов существенным образом уменьшались. Так хроническое воспаление у контрольных крыс вызывало прирост амплитуды комплексных пВПСП на 31,9 %, а на фоне действия антидепрессанта этот прирост достоверно уменьшался (рис. 14) до 7,8 % (1,28 ± 0,04 мВ против 1,38 ± 0,05 мВ). Точно также при действии резерпина амплитуды комплексных пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев ППК увеличивались на 14,7 %; на фоне же хронического введения

амитриптилина прироста амплитуд практически не наблюдалось – всего 3,1 %, 1,32 ± 0,05 мВ против 1,28 ± 0,04 мВ (рис. 14).

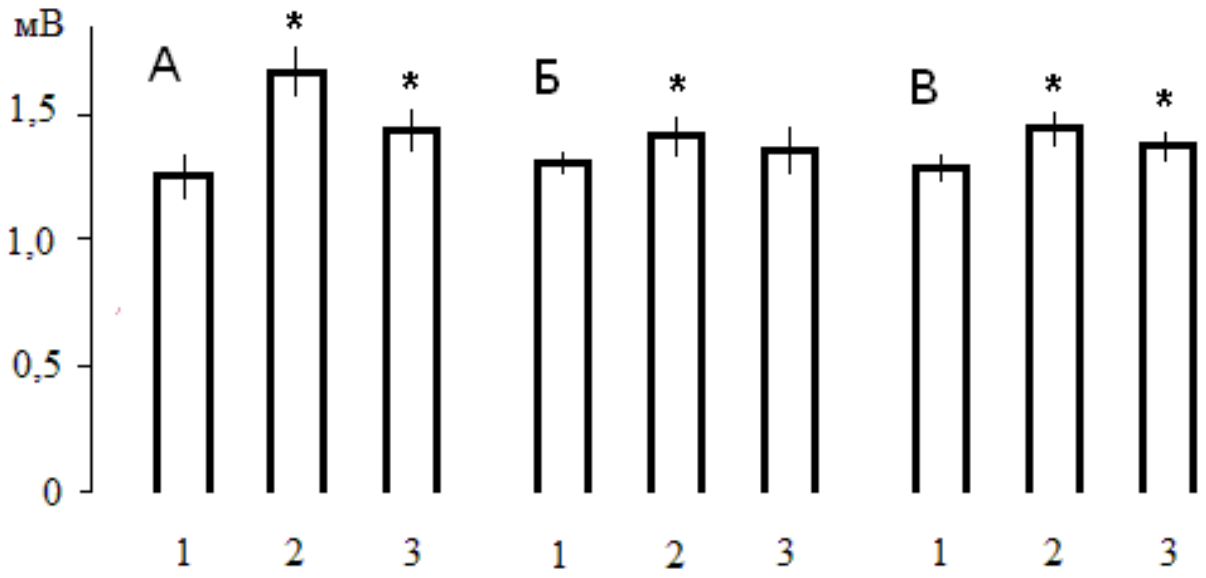

Рисунок 14 - Влияние хронического введения амитриптилина и соединения R-86 на изменения амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев ППК, вызываемые воспалением и действием резерпина.

Группы животных, которым вводили растворитель (А), амитриптилин 20 мг/кг 20 дней (Б), соединение R-86 10 мг/кг 20 дней (В).

1 – контроль, 2 – 7 дней после введения под кожу спины уксусной кислоты, 3 – через 24 часа после в/б введения 1 мг/кг резерпина.

По вертикальной шкале – амплитуда пВПСП в мВ.

* – изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Вещество с церебропротективной активностью соединение R-86 при его хроническом введении крысам также ослабляло повреждение ассоциативных пирамидных нейронов ППК. Так на фоне данного вещества прирост амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов, вызываемый воспалением, составлял 12,8 % (1,41 ± 0,06 мВ против 1,25 ± 0,04 мВ), в то время как у крыс,

которым вводили растворитель, данный показатель достигал 31,9 % (рис. 14). Соединение R-86 ослабляло также повреждающее действие резерпина на пирамидные нейроны II/III слоев ППК. В этих условиях прирост амплитуд снижался до 7,2 % (1,34 ± 0,05 мВ против 1,25 ± 0,04 мВ) по сравнению с 14,7 % у получавших растворитель крыс (рис. 14).

Хроническое введение антидепрессанта амитриптилина и церебропротектора соединения R-86 ослабляло вызываемые воспалением и дефицитом монаминов в мозге повреждения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов II/III слоев ППК (табл. 9).

Таблица 9 - Влияние хронического введения амитриптилина и R-86 на развитие длительной потенциации синаптической передачи в ППК при вызванной воспалением и резерпином поведенческой депрессии.

Стимуляция слоев ППК, под действием препаратов	Изменения амплитуд пВПСП на 30-й мин после прекращения стимуляции		
	Контроль	Хроническое воспаление	Воздействие резерпина
Стимуляция V слоя, отведение II/III слои. Контроль.	131,4 ± 3,7 %	104,8 ± 3,3 %*	112,9 ± 2,8 % *
Стимуляция V слоя, отведение II/III слои. После хронического введения амитриптилина.	147,5 ± 4,0 %	123,2 ± 3,4 %*	137,5 ± 4,1 % *
Стимуляция V слоя, отведение II/III слои. После хронического введения R-86.	153,2 ± 4,3 %	125,1 ± 3,3 %*	135,9 ± 3,4 % *

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Действительно, на фоне хронического воспаления на 30-й мин после серийной тетанической стимуляции синаптических входов амплитуда пВПСП была снижена до 104,8 ± 3,3 % против 131,4 ± 3,7 % контрольных животных; однако на фоне хронического введения амитриптилина прирост амплитуды пВПСП достоверно ($P < 0,05$) возрастал до 123,2 ± 3,4 % (табл. 9). Помимо этого

антидепрессант ослаблял угнетение развития ДП синаптической передачи, вызываемое резерпином – на 30-й мин после прекращения тетанической стимуляции амплитуда пВПСП пирамидных нейронов возрастала до 137,5 ± 4,1 % против 112,9 ± 2,8 % у контрольных животных (табл. 9). На фоне хронического введения соединения R-86 ослаблялось угнетение экспрессии ДП синаптической передачи, вызываемое хроническим воспалением и резерпином, на что указывает прирост амплитуд пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев ППК до 125,1 ± 3,3 % и 135,9 ± 3,4 % соответственно против 104,8 ± 3,3 % и 112,9 ± 2,8 % у контрольных крыс (табл. 9).

Следовательно, вызываемые воспалением и действием резерпина повреждения пирамидных нейронов II/III слоев ППК имеют нейроатрофическую природу и приводят к развитию поведенческой депрессии, поскольку ослабляются церебропротектором соединением R-86 и антидепрессантом амитриптилином. Это, в свою очередь позволяет думать, что если нейроатрофические повреждения нейронов лимбических структур мозга приводят к развитию депрессивного фенотипа поведения животных, то ослабление и обращение этих повреждений при воздействии веществ с церебропротективной активностью приведет к ослаблению проявлений поведенческой депрессии. Т. е. церебропротективные вещества могут проявлять антидепрессивое действие. Однако это предположение нуждается в экспериментальных доказательствах.

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЯ ИССЛЕДУЕМЫХ ВЕЩЕСТВ НА ТЕЧЕНИЕ ВЫЗВАННОЙ ХРОНИЧЕСКИМ НЕИЗБЕГАЕМЫМ ПЛАВАТЕЛЬНЫМ СТРЕССОМ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ ДЕПРЕССИИ

Разработка и использование адекватных экспериментальных моделей психического заболевания депрессии у животных является достаточно сложной проблемой. В первую очередь это обусловлено тем, что депрессия является набором эндофенотипов – патологически сниженное настроение, мыслительная и двигательная скованность, ангедония, беспомощность, суицидальные идеи и др. Очевидно, что у животных невозможно оценивать настроение, идеаторные нарушения, низкую самооценку. Тем не менее, эндофенотипы депрессии могут воспроизводиться независимо друг от друга, и объективно оценены у животных [10; 62].

Нас интересовали два основных эндофенотипа депрессии. Первый из них нарушение мотиваций избавления от угрожающей ситуации (поведение отчаяния), которую у животных можно оценить по изменению времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания. Другой – нарушение реакции вознаграждения, ангедония, который оценивают у животных по изменению потребления сладкого раствора по сравнению с водой (тест предпочтения потребления раствора сахарозы).

Оба эти эндофенотипа можно проанализировать на модели вызываемого хроническим неизбегаемым плавательным стрессом депрессивного фенотипа поведения. Эта модель используется в ряде лабораторий [182, 189, 192]. Достоинствами этой модели депрессивного фенотипа поведения являются: техническая простота, высокая степень воспроизводимости результатов, по сравнению с другими моделями (до 80 %, в то время как воспроизводимость поведенческой депрессии при социальной изоляции и выученной

беспомощности не превышает 50 %), незначительный статистический разброс результатов, и, наконец, сохранение в течение минимум 4 недель депрессивного фенотипа поведения.

Этой модели депрессии по сравнению с депрессией у человека присущи феноменологическое сходство (face validity): угнетение мотиваций, ангедония, возрастание тревожности, снижение двигательной активности и др.; сравнимая этиология (construct validity): ряд форм депрессии вызываются стресогенными воздействиями; идентичное лечение (predictive validity): антидепрессанты ослабляют проявления депрессии и нарушения поведения в этой модели.

На рисунке 15 представлена схема проведения исследований с использованием вызванной хроническим неизбегаемым плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Рисунок 15 - Схема проведения исследований на модели вызванной хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии.

В течение предшествующих дню 1 четырех дней определяли показатели поведения животных – время иммобилизации в течение 5 мин в тесте вынужденного плавания и показатель (%) предпочтения потребления раствора сахарозы. Затем в дни 1 - 5 крыс ежедневно в течение 10 мин принуждали плавать в заполненном водой цилиндре. Через 10 и 20 дней после прекращения плавания (дни 15 и 25) у животных определяли изменения параметров поведения. Исследуемые вещества антидепрессанты (имипрамин, амитриптилин, кетамин), церебропротекторы (диакамф, соединение R-86) и

препараты сравнения (пирацетам) вводили внутрибрюшинно на протяжении 20 дней, начиная с первого дня после прекращения плавательного стресса. Контрольным животным вводили эквивалентный объем растворителя.

5.1 Влияние антидепрессантов на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы.

На 10-й день после последнего сеанса принудительного плавания по 10 мин в течение 5 дней у крыс наблюдали выраженный депрессивный фенотип поведения. Действительно, в этих условиях (табл. 10) зарегистрировано увеличение времени иммобилизации в тесте Порсолта до 114,1 ± 4,8 с против 45,5 ± 2,3 с у интактных животных (P = 0,00002). Выявлены также изменения других параметров этого теста: так время активного плавания сокращалось до 7,0 ± 3,1 с против 16,5 ± 6,2 с у интактных животных (P = 0,028).

Таблица 10 - Динамика изменений исследуемых параметров поведения при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии.

	Условия эксперимента		
Исследуемые параметры поведения	Интактный контроль	Введение растворителя в течение 10 дней	Введение растворителя в течение 20 дней
Продолжительность иммобили-зации (с)	45,5 ± 2,3	114,1 ± 4,8*	87,6 ± 6,3*
% предпочтения потребления раствора сахарозы	79,4 ± 2,4	54,1 ± 1,8*	66,6 ± 2,1*

* - изменения достоверны относительно интактной группы при p<0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

На 20-й день после последнего из 5 сеансов стрессогенного воздействия время иммобилизации было увеличено до 87,6 ± 6,3 с (P = 0,006), продолжительность активного плавания снижена до 7,8 ± 3,1 с (P = 0,047).

Воздействие хронического неизбегаемого плавательного стресса вызывало изменения гедонического поведения животных. Как следует из таблицы 10, на 10-й день после прекращения плавательного стресса величина предпочтения потребления раствора сахарозы уменьшалась до 54,1 ± 1,8 % против 79,4 ± 2,4 % (P = 0,002), а на 20-й день после прекращения стрессогенного воздействия этот показатель составлял 66,6 ± 2,1 %. Количество потребленного раствора сахарозы шестью крысами в течение 1 часа равнялось 8,6 ± 1,2 мл; на 10-й и 20-й дни после прекращения плавательного стресса этот показатель уменьшался до 5,8 ± 0,7 мл и 7,2 ± 0,9 мл соответственно. Очевидно, что второй показатель гедонического поведения животных менее информативный по сравнению с показателем предпочтения.

Хроническое на протяжении 20 дней введение классического трициклического антидепрессанта имипрамина оказывало выраженное влияние на вызываемую хроническим плавательным стрессом поведенческую депрессию. На фоне применяемого в дозе 20 мг/кг имипрамина на 10-й день время иммобилизации крыс в ПТП уменьшалось от 114,4 ± 5,1 с до 69,6 ± 2,4 с (P = 0,0001), а на 20-й день - от 83,4 ± 3,0 с до 40,2 ± 1,8 с (P = 0,0001; табл. 11) и в последнем случае практически не отличалось от данного показателя у интактных крыс.

Практически аналогичные результаты получены при исследовании влияния имипрамина на гедонический компонент поведения крыс. Действительно после воздействия хронического плавательного стресса на 10-й и 20-й дни после его прекращения показатели предпочтения потребления раствора сахарозы уменьшались до 54,0 ± 1,8 % и 66,6 ± 2,1 % соответственно против 79,4 ± 2,4 % в контроле (табл. 11). При хроническом введении антидепрессанта имипрамина в дозе 20 мг/кг показатели теста предпочтения потребления

раствора сахарозы на 10-й и 20-й дни исследования возрастали соответственно (табл. 11) до 80,2 ± 2,5 % (P = 0,0001) и 85,5 ± 3,4 % (P = 0,014).

Таблица 11 - Влияние имипрамина, амитриптилина и кетамина на показатели мотивационного и гедонического компонентов поведения крыс, регистрируемые на 10-й и 20-й дни после прекращения плавательного стресса.

Препараты	Время иммобилизации (с)		% предпочтения потребления раствора сахарозы	
	10 день	20 день	10 день	20 день
Контроль, введение растворителя	114,4 ± 5,1	83,4 ± 3,0	54,0 ± 1,8	66,6 ± 2,1
Имипрамин 20 мг/кг	69,6 ± 2,4*	40,2 ± 1,8*	80,2 ± 2,5*	85,5 ± 3,4*
Амитриптилин 20 мг/кг	86,0 ± 4,2*	44,6 ± 3,1*	74,4 ± 3,3*	83,2 ± 3,7*
Кетамин 5 мг/кг, однократно за 1 час до опыта	79,8 ± 3,9*	-	66,1 ± 2,1*	-

* - изменения достоверны относительно интактной группы при p<0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Другой трициклический антидепрессант – амитриптилин, в отличие от имипрамина обладающий выраженным седативным действием, оказывал сходное с имипрамином влияние на проявления вызываемой плавательным стрессом поведенческой депрессии. Действительно, на фоне хронического введения амитриптилина наблюдали достоверное (P < 0,05) уменьшение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до 86,0 ± 4,2 с и 44,6 ± 3,1 с соответственно на 10-й и 20-й дни после прекращения стрессогенного воздействия (табл. 11). Также в условиях хронического введения амитриптилина выявлено ослабление проявлений ангедонии. В этих условиях показатели предпочтения потребления раствора сахарозы возрастали 74,4 ± 3,3 и 83,2 ± 3,7 % против 54,0 ± 1,8 и 66,6 ± 2,1 % (P < 0,05) у крыс, которым вводили растворитель (табл. 11).

Неконкурентный блокатор НМДА глутаматных рецепторов нейронов кетамин при введении в субанестетических дозах проявляет свойства быстродействующего антидепрессанта [68]. В/б введение кетамина крысам в дозе 5 мг/кг за 1 час до до электрофизиологических исследований на 10-й день после прекращения плавательного стресса вызывало достоверное (P = 0,002) уменьшение времени иммобилизации крыс в плавательном тесте Порсолта 79,8 ± 3,9 с против 114,4 ± 5,1 с у крыс, которым вводили растворитель (табл. 11). Что касается другого эндофенотипа поведенческой депрессии – ангедонии, то влияние кетамина на нее выраженно слабее. Кетамин достоверно (P < 0,05) увеличивал показатель предпочтения потребления сахарозы до 66,1 ± 2,1 % против 54,0 ± 1,8 % у контрольных крыс (табл. 11).

Таким образом, исследуемые антидепрессанты имипрамин, амитриптилин и кетамин ослабляли мотивационные и гедонические нарушения поведения крыс, вызываемые хроническим плавательным стрессом, что является дополнительным доказательством того, что наблюдаемые изменения поведения крыс являются поведенческой депрессией.

5.2 Влияние веществ с церебропротективной активностью на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы.

В главе 4 было установлено, что обладающие церебропротективной активностью препараты диакамф и соединение R-86, а также препарат сравнения пирацетам ослабляли повреждения релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов ПФК, вызываемые

депрессогенными процедурами – хроническим воспалением и дефицитом моноаминов в мозге. В связи с этим было выдвинуто предположение, что коль церебропротекторы ослабляют функциональные повреждения нейронов лимбической системы, это может привести к коррекции нарушенных поведенческих реакций при депрессогенных воздействиях.

Одним из проявлений поведенческой депрессии, вызываемой воздействием хронического плавательного стресса, является угнетение мотивации избавления от угрожающей ситуации, которое проявлялось увеличением времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания от 45,5 ± 2,3 с до 133,0 ± 5,1 с и 70,2 ± 3,6 с ($P < 0,05$) на 10-й и 20-й дни после прекращения плавательного стресса (табл. 12).

Второй компонент проявления вызываемой хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии это ангедония, которую определяли по уменьшению предпочтения потребления раствора сахарозы. Действительно, этот показатель уменьшался от 83,6 ± 3,4 % у контрольных животных до 57,6 ± 5,3 % и 65,4 ± 5,5 % на 10-й и 20-й дни соответственно ($P < 0,05$; табл. 12).

Хроническое системное введение диакамфа в течение 10 дней после прекращения плавательного стресса не оказывало влияния как на время иммобилизации крыс в ПТП, так и на показатель предпочтения потребления сладкого раствора (табл. 12). Только после 20 дней хронического введения диакамф обнаруживал антидепрессивное действие, которое проявлялось уменьшением времени иммобилизации от 70,2 ± 3,6 с до 21,6 ± 3,9 с ($P = 0,0003$) и увеличением показателя предпочтения потребления раствора сахарозы от 65,4 ± 4,5 % до 84,5 ± 4,2 % ($P < 0,05$; табл. 12).

При сравнении антидепрессивного действия хронически вводимых имипрамина и амитриптилина в дозе 20 мг/кг с антидепрессивным действием хронически вводимого диакамфа в дозе 10 мг/кг выявлены определенные различия. Так, в отличие от диакамфа который после 10 дней введения не влиял ни на время иммобилизации крыс в ПТП, ни на показатель предпочтения

потребления сладкого раствора (табл. 12), антидепрессанты в этот промежуток времени достоверно снижали время иммобилизации крыс, а показатель предпочтения потребления раствора сахарозы увеличивали (табл. 11). После 20 дней хронического введения антидепрессантов и диакамфа их влияние на исследуемые показатели были практически одинаковыми (табл. 11 и 12).

Таблица 12 - Влияние хронического введения диакамфа в дозе 10 мг/кг на продолжительность иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у крыс с вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессией.

Исследуемые параметры	Условия эксперимента				
	Интактный контроль	Введение растворителя в течение 10 дней	Введение диакамфа в течение 10 дней	Введение растворителя в течение 20 дней	Введение диакамфа в течение 20 дней
Продолжительность иммобилизации (с)	45,5 ± 2,3	133,0 ± 5,1*	123,0 ± 4,4	70,2 ± 3,6*	21,6 ± 3,9#
% предпочтения потребления раствора сахарозы	83,6 ± 3,4	57,6 ± 5,3*	59,8 ± 5,1	65,4 ± 4,5*	84,5 ± 4,2#

* - изменения достоверны относительно интактной группы при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни; # - изменения достоверны относительно группы с контрольным повреждающим воздействием при $p<0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Из табллицы 13 следует, что в отличие от крыс с депрессивным фенотипом поведения, где диакамф оказывает коррегирующее влияние на проявления угнетения мотивации избавления от угрожающей ситуации и ангедонии, у интактных крыс хроническое введение этого церебропротектора не оказывало достоверного влияния ни на время иммобилизации крыс, ни на показатель предпочтения потребления раствора сахарозы. Т. е. диакамф изменяет параметры поведения животных только при их нарушениях.

Таблица 13 - Влияние хронического введения диакамфа в дозе 10 мг/кг на продолжительность иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у интактных крыс.

Исследуемые параметры	Условия эксперимента		
	Интактный контроль	Введение диакамфа в течение 10 дней	Введение диакамфа в течение 20 дней
Продолжительность иммобилизации (с)	45,5 ± 2,3	53,0 ± 4,7	48,4 ± 4,1
% предпочтения потребления раствора сахарозы	83,6 ± 3,4	79,8 ± 5,4	80,2 ± 5,2

при P < 0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Другой препарат с церебропротективной активностью соединение R-86 по влиянию на параметры поведения крыс с вызванной хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессией занимал промежуточное положение между диакамфом и антидепрессантами.

Как следует из таблицы 14, воздействие плавательного стресса проявлялось возрастанием времени иммобилизации животных, о чем свидетельствует увеличение времени иммобилизации от 42,8 ± 3,3 с в контроле до 114,0 ± 5,1 с и 83,4 ± 3,0 с на 10-й и 20-й день исследования соответственно. При хроническом введении крысам соединение R-86 уменьшало это проявление поведенческой депрессии, вызванной хроническим плавательным стрессом.

Действительно, как следует из таблицы 14 после 10 дней введения препарата время иммобилизации крыс уменьшалось до 91,7 ± 5,5 с по сравнению с 114,0 ± 5,1 с у крыс, которым вводили растворитель (P = 0.014). После 20 дней введения препарата этот показатель уменьшался до 50,6 ± 3,3 с против 83,4 ± 3,0 с (P = 0,0002).

Таблица 14 - Влияние хронического введения соединения R-86 в дозе 10 мг/кг на продолжительность иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у крыс с вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессией.

Исследуемые параметры	Условия эксперимента				
	Интактный контроль	Введение растворителя в течение 10 дней	Введение R-86 в течение 10 дней	Введение растворителя в течение 20 дней	Введение R-86 в течение 20 дней
Продолжительность иммобилизации (с)	42,8 ± 3,3	114,0 ± 5,1*	91,7 ± 5,5#	83,4 ± 3,0*	50,6 ± 3,3+
% предпочтения потребления раствора сахарозы	79,4 ± 2,4	54,0 ± 1,8*	57,6 ± 3,1	66,7 ± 2,1*	76,7 ± 2,9+

* - величины достоверно отличаются от интактного контроля при P < 0,05; # и + - величины достоверно отличаются от контрольного повреждающего воздействия на 10-й и 20-й дни соответственно при P < 0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Параллельно с угнетением мотивации избавления у крыс при пятидневном воздействии плавательного стресса наблюдали снижение предпочтения потребления сладкого раствора по сравнению с водой от 79,4 ± 2,4 % до 54,0 ± 1,8 % и 66,7 ± 2,1 % на 10-й и 20-й дни соответственно (табл. 14), что указывает на нарушение в системе вознаграждения в виде ангедонии. Влияние соединения R-86 на ангедонию на фоне вызываемой плавательным стрессом поведенческой депрессии было менее выраженным по сравнению с влиянием на мотивационные нарушения. После 10 дней введения препарата показатель предпочтения потребления сладкого раствора достоверно не изменялся – 57,6 ± 3,1 % по сравнению с 54,0 ± 1,8 % у крыс, которым вводили растворитель (P = 0,42; табл. 14). После 20 дней введения препарата показатель предпочтения возрастал (табл. 14) до 76,7 ± 2,9 % против 66,7 ± 2,1 % (P = 0,0011).

Таким образом, при поведенческой депрессии, вызванной хроническим плавательным стрессом производное оксиндола – соединение R-86 демонстрирует выраженное антидепрессивное действие, ослабляя проявления нарушений мотивационного и гедонического компонентов поведения. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что соединение R-86 менее выражено ослабляет ангедонию по сравнению со временем иммобилизации (табл. 14).

Подобно диакамфу соединение R-86 как при однократном, так и хроническом введении интактным животным (табл. 15) не вызывает достоверных изменений времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания и показателя предпочтения потребления сладкого раствора.

Таблица 15 - Влияние хронического введения соединения R-86 в дозе 10 мг/кг на продолжительность иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у интактных крыс.

Исследуемые параметры	Условия эксперимента		
	Интактный контроль	Введение R-86 в течение 10 дней	Введение R-86 в течение 20 дней
Продолжитель-ность иммобилизации (с)	42,8 ± 3,3	48,7 ± 5,3	40,9 ± 6,3
% предпочтения потребления раствора сахарозы	79,4 ± 2,4	77,9 ± 4,6	86,3 ± 5,7

при $P < 0,05$ с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Для позитивного препарата сравнения пирацетама, вводимого в дозе 100 мг/кг, характер влияния на проявления поведенческой депрессии, вызываемой хроническим плавательным стрессом, наиболее близок к влиянию антидепрессантов.

На 10-й день после последнего сеанса принудительного плавания по 10 мин в течение 5 дней у крыс наблюдали выраженный депрессивный фенотип поведения. Действительно, в этих условиях (табл. 16) зарегистрировано увеличение времени иммобилизации в тесте Порсолта до 114,1 ± 4,8 с против 45,5 ± 2,3 с у интактных животных ($P = 0,00002$). На 20-й день после последнего

из 5 сеансов стрессогенного воздействия время иммобилизации было увеличено до 87,6 ± 6,3 с (Р = 0,047; табл. 16). У животных, которым вводили пирацетам 100 мг/кг внутрибрюшинно на 10 день после прекращения неизбегаемого плавательного стресса зарегистрировано увеличение времени иммобилизации в тесте Порсолта до 72,9 ± 4,4 с против 45,5 ± 2,3 с у интактных животных (Р = 0,0006). На 20-й день после последнего из 5 сеансов стрессогенного воздействия время иммобилизации уменьшалось до 33,6 ± 3,6 с (см табл. 16).

Таблица 16 - Влияние хронического введения пирацетама в дозе 100 мг/кг на продолжительность иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у крыс с вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессией.

Исследуемые параметры	Условия эксперимента				
	Интактный контроль	Введение раствори-теля в течение 10 дней	Введение пираце-тама в течение 10 дней	Введение раствори-теля в течение 20 дней	Введение пираце-тама в течение 20 дней
Продолжитель-ность иммобили-зации (с)	45,5 ± 2,3	114,1 ± 4,8*	72,9 ± 4,4#	87,6 ± 6,3*	33,6 ± 3,6+
% предпочтения потребления раствора сахарозы	79,4 ± 2,4	54,1 ± 1,8*	71,4 ± 4,4#	66,6 ± 2,1*	85,7 ± 5,6+

* - величины достоверно отличаются от интактного контроля при Р < 0,05; # и + - величины достоверно отличаются от контрольного повреждающего воздействия на 10-й и 20-й дни соответственно при Р < 0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Воздействие хронического неизбегаемого плавательного стресса вызывало изменения гедонического поведения животных. Как следует из таблицы 16, на 10-й день после прекращения плавательного стресса величина предпочтения потребления раствора сахарозы уменьшалась до 54,1 ± 1,8 % против 79,4 ± 2,4 % (Р = 0,002), а на 20-й день после прекращения стрессогенного воздействия этот

показатель составлял 66,6 ± 2,1 % у контрольных животных. У животных, которым вводили пирацетам 100 мг/кг внутрибрюшинно на 10 день после прекращения неизбегаемого плавательного стресса величина предпочтения потребления раствора сахарозы незначительно уменьшалась по сравнению с интактными животными, но в сравнении с контрольными, у которых величина предпочтения потребления раствора сахарозы составляла 54,1 ± 1,8 % против 71,4 ± 4,4 % после введения пирацетама (P = 0,006), а на 20-й день после прекращения неизбегаемого стрессогенного воздействия этот показатель составлял 85,7 ± 5,6 % (см табл. 16).

Таким образом, результаты этого раздела исследования однозначно указывают на то, что обладающий церебропротективной активность референтный препарат пирацетам в условиях хронического введения ослабляет проявления поведенческой депрессии, вызываемой хроническим плавательным стрессом, т. е. проявляет антидепрессивное действие.

Противоположные результаты по отношению к эффектам используемых веществ с церебропротективной активностью были получены при использовании негативного референтного препарата дексаметазона, который вводили крысам, получавшим растворитель в дозе 0,5 мг/кг в течение двух дней, предшествующих дням регистрации параметров поведения. Так, на фоне предварительного введения дексаметазона время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания достоверно (P < 0,05) возрастало до 142,6 ± 6,6 с и 105,9 ± 4,8 с на 10-й и 20-й дни соответственно против 114,0 ± 5,1 с и 83,4 ± 3,0 с у крыс, которые получали только растворитель (табл. 17).

Что касается ангедонии, наблюдаемой при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии, то к 10 дню после прекращения стрессогенного воздействия дексаметазон не вызывал достоверных изменений показателя предпочтения потребления раствора сахарозы (табл. 17). Однако через 20 дней воздействие глюкокортикоида достоверно (P < 0,05) снижало

величину этого показателя до 46,5 ± 2,4 % против 66,7 ± 2,1 % у получавших только растворитель крыс (табл. 17), т. е. усиливало проявление ангедонии.

Таблица 17 - Влияние двухдневного введения дексаметазона в дозе 0,5 мг/кг на продолжительность иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у крыс с вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессией.

Исследуемые параметры	Условия эксперимента				
	Интактный контроль	Введение растворителя в течение 10 дней	Введение дексаметазона на 8-й и 9-й дни	Введение растворителя в течение 20 дней	Введение дексаметазона на 18-й и 19-й дни
Продолжительность иммобилизации (с)	42,8 ± 3,3	114,0 ± 5,1*	142,6 ± 6,6 #	83,4 ± 3,0*	105,9 ± 4,8 +
% предпочтения потребления раствора сахарозы	79,4 ± 2,4	54,0 ± 1,8*	47,4 ± 3,2	66,7 ± 2,1*	46,5 ± 2,4+

* - величины достоверно отличаются от интактного контроля при P < 0,05; # и + - величины достоверно отличаются от контрольного повреждающего воздействия на 10-й и 20-й дни соответственно при P < 0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Следовательно, негативный референтный препарат дексаметазон, который усиливал вызываемые депрессогенными процедурами функциональные повреждения пирамидных нейронов центральной лимбической структуры ПФК, увеличивал тяжесть поведенческой депрессии, обусловленной хроническим плавательным стрессом. Негативное влияние дексаметазона на течение поведенческой депрессии в большей степени выражено в отношении мотивационных нарушений по сравнению с ангедонией.

5.3 Исследования влияния веществ с церебропротективной активностью на эффекты антидепрессантов.

Одним из направлений лечения резистентных к фармакотерапии форм депрессии является усиление (аугментация) действия антидепрессантов, т. е. сочетание антидепрессантов с лекарственными препаратами, не относящимися к антидепрессантам. Поэтому в данном разделе исследования мы попытались выяснить влияние церебропротекторов, которые улучшают функциональное состояние мозга, на поведение животных и антидепрессивную активность имипраина, амитриптилина и кетамина в условиях моделирования депрессивного синдрома, вызываемого хроническим плавательным стрессом.

Как следует из таблицы 18, хроническое введение имипрамина в дозе 20 мг/кг крысам, подвергнутым воздействию хронического плавательного стресса, вызывало достоверное снижение времени иммобилизации животных в ПТП, но увеличение показателя предпочтения потребления раствора сахарозы после 10 и 20 дней введения препарата. Введение антидепрессанта в дозе 5 мг/кг (1/4 от предыдущей дозы) крысам на протяжении трех недель в тех же условиях не вызывало достоверных изменений исследуемых показателей (табл. 18). В тоже время, совместное введение ¼ дозы имипрамина и ½ дозы диакамфа (5 мг/кг) после 10 дней введения также не оказывало достоверного влияния на поведение крыс, но после 20 дней введения снижало время иммобилизации крыс до 58,6 ± 2,7 с против 83,4 ± 3,0 с и 74,4 ± 3,6 с у крыс, которым вводили растворитель и имипрамин в дозе 5 мг/кг соответственно ($P < 0,05$; табл. 18).

Аналогично при хроническом десятидневном введении указанных дробных доз имипрамина и диакамфа не наблюдали достоверных изменений показателя предпочтения потребления раствора сахарозы, однако после 20 дней введения комбинации веществ этот показатель возрастал до 78,5 ± 3,4 % против

64,5 ± 4,5 % и 63,6 ± 2,7 % у крыс, которым вводили растворитель или имипрамин в дозе 5 мг/кг соответственно (P < 0,05; табл. 18).

Таблица 18 - Влияние имипрамина, диакамфа и их комбинации на мотивационные и гедонические компоненты поведения крыс при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Вводимые вещества	Время иммобилизации (с)		% предпочтения потребления раствора сахарозы	
	10-й день	20-й день	10-й день	20-й день
Контроль, растворитель	114,4 ± 5,1	83,4 ± 3,0	57,6 ± 5,3	64,5 ± 4,5
Имипрамин 20 мг/кг	69,6 ± 2,4*	40,2 ± 1,8*	80,2 ± 2,5*	85,3 ± 4,7*
Имипрамин 5 мг/кг	126,0 ± 7,2	74,4 ± 3,6	54,5 ± 2,6	63,6 ± 2,7
Диакамф 5 мг/кг	115,1 ± 4,4	63,2 ± 2,4*	57,4 ± 2,1	70,8 ± 2,6
Имипрамин 5 мг/кг + Диакамф 5 мг/кг	98,4 ± 5,4	58,6 ± 2,7#	64,4 ± 3,2	78,5 ± 3,4#

*- величины статистически значимо отличаются от контроля при P < 0,05; # - величины статистически значимо отличаются от величин, характеризующих действие имипрамина в дозе 5 мг/кг при P < 0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Количественная оценка взаимодействия диакамфа и имипрамина в дозах по 5 мг/кг указывает на то, что происходит простое сложение эффектов двух веществ. Таким образом, в условиях вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии диакамф при хроническом введении демонстрирует аддитивный синергизм с антидепрессантом.

Другой антидепрессант амитриптилин, вводимый в дозе 20 мг/кг в течение 10 дней достоверно (P = 0,0001) снижал время иммобилизации крыс до 72,3 ± 2,6 с против 114,2 ± 5,1 с в контроле, а показатель предпочтения потребления раствора сахарозы увеличивал от 57,6 ± 5,3 % до 76,7 ± 3,2 % (P = 0,02; табл. 19).

После 20 дней хронического введения амитриптилин оказывал более существенное влияние на исследуемые показатели вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии у крыс. Так, время иммобилизации животных снижалось до 45,3 ± 2,5 с, а показатель предпочтения потребления раствора сахарозы возрастал до 80,1 ± 3,5 % (табл. 19).

Хроническое введение амитриптилина в дозе 5 мг/кг (1/4 от предыдущей дозы) в условиях вызванной хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии не вызывало достоверных изменений исследуемых параметров поведения. Так, после 10 дней введения время иммобилизации и показатель предпочтения потребления раствора сахарозы равнялись 119,6 ± 6,8 с и 51,7 ± 3,3 % соответственно, а после 20 дней введения - 78,2 ± 4,1 с и 60,1 ± 3,4 % (табл. 19).

Таблица 19 - Влияние амитриптилина, соединения R-86 и их комбинации на мотивационные и гедонические компоненты поведения крыс при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Вводимые вещества	Время иммобилизации (с)		% предпочтения потребления раствора сахарозы	
	10-й день	20-й день	10-й день	20-й день
Контроль без веществ	114,4 ± 5,1	83,4 ± 3,0	57,6 ± 5,3	64,5 ± 4,5
Амитрипти-лин 20 мг/кг	72,3 ± 2,6*	45,3 ± 2,5*	76,7 ± 3,2*	80,1 ± 3,5*
Амитрипти-лин 5 мг/кг	119,6 ± 6,8	78,2 ± 4,1	51,7 ± 3,3	60,1 ± 3,4
R-86 5 мг/кг	102,1 ± 3,9	67,4 ± 2,7*	56,5 ± 2,3	71,7 ± 2,5
Ами 5 мг/кг + R-86 5 мг/кг	43,2 ± 3,3#	28,7 ± 2,9#	80,1 ± 3,4#	84,7 ± 3,6#

*- величины статистически значимо отличаются от контроля при P < 0,05;

- величины статистически значимо отличаются от величин, характеризующих действие амтриптилина в дозе 5 мг/кг при P < 0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

При введении половинной дозы соединения R-86 эффекты препарата по его влиянию на мотивационные и гедонические компоненты поведения уменьшались по сравнению с полной дозой 10 мг/кг (табл. 19). В тоже время, при совместном введении ¼ дозы амитриптилина и ½ дозы соединения R-86 приводило к развитию большего (43,2 ± 3,3 с и 28,7 ± 2,9 с против 72,3 ± 2,6 с и 45,3 ± 2,5 с) эффекта по сравнению с полной (1) дозой амитриптилина по влиянию на время иммобилизации крыс (табл. 19). Влияние на гедонический компонент поведения было менее выраженным по сравнению с влиянием на время иммобилизации крыс. Тем не менее при совместном использовании ¼ дозы амитриптилина и ½ дозы соединения R-86 получали такой же эффект, как от полной дозы антидепрессанта. Действительно самостоятельно амитриптилин увеличивал показатель предпочтения раствора сахарозы до 76,7 ± 3,2 % и 80,1 ± 3,5 %, а комбинация препаратов увеличивала эти показатели до 80,1 ± 3,4 % и 84,6 ± 3,7 % соответственно после 10 и 20 дней введения препаратов соотвественно (табл. 19).

Таким образом, поскольку эффект комбинации ¼ дозы амитриптилина + ½ дозы соединения R-86 дает такой же или даже больший эффект, нежели полная доза амитриптилина (табл. 19), в соответствии с законами общей фармакологии [27] можно считать, что церебропротектор R-86 при хроническом введении усиливает (потенцирует) эффекты антидепрессанта.

Позитивный референтный препарат пирацетам в общих чертах оказывает такое же действие на эффекты антидепрессанта имипрамина, как и выше рассмотренные церебропротекторы.

Хроническое на протяжении 20 дней введение классического трициклического антидепрессанта имипрамина оказывало выраженное влияние на вызываемую хроническим плавательным стрессом поведенческую депрессию. На фоне применяемого в дозе 20 мг/кг имипрамина на 10-й день время иммобилизации крыс в ПТП уменьшалось от 114,4 ± 5,1 с до 69,6 ± 2,4 с (P = 0,0001), а на 20-й день - от 83,4 ± 3,0 с до 40,2 ± 1,8 с (P = 0,0001; табл. 20) и

в последнем случае практически не отличалось от данного показателя у интактных крыс (см. табл. 16). Хроническое введение крысам имипрамина в меньшей (5 мг/кг) дозе. существенного влияния на время иммобилизации крыс в тесте Порсолта на 10-й и 20-й дни исследования, как следует из таблице 20, не оказывало: 126,0 ± 7,2 и 74,4 ± 3,6 с против 114,4 ± 5,1 и 83,4 ± 3,0 с в контроле (P > 0,05). Использование пирацетама в половинной дозе – 50 мг/кг оказывало менее выраженное действие на продолжительность иммобилизации по сравнению с постоянно используемой дозой ноотропа (табл. 20). В тоже время, на фоне хронического введения крысам комбинации 5 мг/кг имипрамина и 50 мг/кг пирацетама вызывало уменьшение времени иммобилизации крыс на 10-й и 20-й дни исследования до 98,4 ± 5,4 с (P = 0,056) и 36,6 ± 2,4 с (P = 0,0001) соответственно (табл. 20).

Таблица 20 - Влияние имипрамина, пирацетама и их комбинации на мотивационные и гедонические компоненты поведения крыс при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Вводимые вещества	Время иммобилизации (с)		% предпочтения потребления раствора сахарозы	
	10 день	20 день	10 день	20 день
Контроль без веществ	114,4 ± 5,1	83,4 ± 3,0	54,0 ± 1,8	66,6 ± 2,1
Имипрамин 20 мг/кг	69,6 ± 2,4*	40,2 ± 1,8*	80,2 ± 2,5*	85,5 ± 3,4*
Имипрамин 5 мг/кг	126,0 ± 7,2	74,4 ± 3,6	54,5 ± 2,6	63,6 ± 2,7
Пирацетам 50 мг/кг	85,1 ± 3,4*	58,6 ± 2,7*	63,3 ± 2,1*	70,8 ± 2,6
Ими 5 мг/кг + Пир 50 мг/кг	98,4 ± 5,4#	36,6 ± 2,4#	84,7 ± 3,2#	88,2 ± 3,4#

*- величины статистически значимо отличаются от контроля при P < 0,05; # - величины статистически значимо отличаются от величин, характеризующих действие имипрамина в дозе 5 мг/кг при P < 0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Практически аналогичные результаты получены при исследовании влияния используемых препаратов на гедонический компонент поведения крыс. Действительно после воздействия хронического плавательного стресса на 10-й и 20-й дни после его прекращения показатели предпочтения потребления раствора сахарозы уменьшались до 54,0 ± 1,8 % и 66,6 ± 2,1 % соответственно против 79,4 ± 2,4 % в контроле (табл. 16 и 20). При хроническом введении антидепрессанта имипрамина в дозе 20 мг/кг показатели теста предпочтения потребления раствора сахарозы на 10-й и 20-й дни исследования возрастали соответственно (табл. 20) до 80,2 ± 2,5 % (P = 0,0001) и 85,5 ± 3,4 % (P = 0,014). Имипрамин, используемый в меньше дозе – 5 мг/кг, не оказывал влияния на показатели теста предпочтения потребления раствора сахарозы, сниженные при воздействии хронического плавательного стресса (табл. 20). Используемый в половинной дозе пирацетам ослаблял проявления стресс-индуцируемой ангедонии на 10-й день введения (63,3 ± 2,1 % против 54,0 ± 1,8; P = 0,04), но не на 20-й день введения (табл. 20). При хроническом введении комбинации имипрамин 5 мг/кг + пирацетам 50 мг/кг наблюдали отчетливое угнетение вызываемой хроническим плавательным стрессом ангедонии, судя по увеличению показателей теста предпочтения потребления сахарозы до 84,7 ± 3,2 % (P = 0,0001) и 88,2 ± 3,4 % (P = 0,0003) на 10-й и 20-й дни исследования соответственно (табл. 20).

Таким образом, поскольку при совместном использовании ¼ дозы имипрамина и ½ дозы пирацетама наблюдаются такие же эффекты, судя по изменениям времени иммобилизации крыс и показателей предпочтения потребления сладкого раствора, как и от полной дозы имипрамина, можно утверждать что позитивный референтный препарат пирацетам потенцирует поведенческие эффекты имипрамина.

Вещества с церебропротективной активностью облегчают и усиливают поведенческие эффекты не только классических трициклических

антидепрессаетов, но и быстродействующего антидепрессанта кетамина (табл. 21).

Действительно, введение этого быстродействующего антидепрессанта в дозе 5 мг/кг на фоне хронического введения диакамфа в дозе 10 мг/кг вызывало достоверно (P = 0,003) большее снижение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до 58,9 ± 3,9 с против 79,8 ± 3,9 с у крыс, которым вводили растворитель (табл. 21). Важно отметить, что после 10 дней введения диакамф не вызывал достоверных изменений времени иммобилизации крыс при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии (табл. 21).

Таблица 21 - Влияние кетамина на фоне хронического введения диакамфа и пирацетама на поведенческие реакции у крыс при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Препараты	Время иммобилизации (с)	% предпочтения потребления раствора сахарозы
Контроль (растворитель)	59,4 ± 3,4	79,4 ± 2,4
10-й день после прекращения плавательного стресса (растворитель)	114,0 ± 5,1*	54,0 ± 1,8*
Кетамин 5 мг/кг через 1 час после введения	79,8 ± 3,9#	66,1 ± 2,1#
Кетамин 5 мг/кг на фоне хронического введения диакамфа 10 мг/кг	58,9 ± 3,9+	78,3 ± 3,2+
Кетамин 5 мг/кг на фоне хронического введения пирацетама 100 мг/кг	65,4 ± 3,1+	74,9 ± 2,9+

Показатели достоверно (P<0,05) отличаются от контроля (*), от показателей после введения только кетамина (#) и от показателей на фоне совместного введения кетамина и церебропротекторов (+), при с использованием U-критерия Манна–Уитни.

В меньшей степени диакамф в условиях хронического введения увеличивал показатель предпочтения потребления сахарозы – до 78,3 ± 3,2 %

против 66,1 ± 2,1 % у получавших растворитель крыс (табл. 21). Сходным действием обладал референтный церебропротектор пирацетам. Препарат в условиях хронического в течение 10 дней введения уменьшал вызываемое введением кетамина время иммобилизации крыс до 65,4 ± 3,1 с, а показатель предпочтения потребления сладкого раствора увеличивал до 74,9 ± 2,9 % против 79,8 ± 3,9 с и 66,1 ± 2,1 % соответственно у крыс которым кетамин вводили на фоне хронического введения растворителя (табл. 21).

Результаты этой серии опытов указывают на то, что церебропротекторы усиливают поведенческие эффекты и кетамина как антидепрессанта.

ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЯ ИССЛЕДУЕМЫХ ВЕЩЕСТВ НА ТЕЧЕНИЕ ВЫЗВАННОЙ ХРОНИЧЕСКИМ ВОСПАЛЕНИЕМ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ ДЕПРЕССИИ

Хроническое воспаление вызывает функциональные и морфологические изменения деятельности нейронов лимбических структур мозга. Функциональные нарушения обусловлены преимущественно образованием и высвобождением провоспалительных цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО. Цитокины активируют рецепторы, которые экспрессируют в нейронах и глиальных клетках, и запускаемые этим процессы трансдукции изменяют возбудимость нейронов, релейные и пластические свойства глутаматергических синапсов в нейронных сетях лимбической системы. Вызываемое цитокинами нарушение обмена триптофана приводит к образованию активных агонистов глутаматных НМДА рецепторов и активных форм кислорода, которые приводят к эксайтотоксическим и оксидативным морфологическим нарушением (см. обзор литературы). Все эти изменения приводят к развитию депрессивного фенотипа поведения.

Этим и определялся выбор другой модели депрессии – вызванной хроническим воспалением мягких тканей спины у крыс. Эта модель депрессии имеет феноменологическое сходство с депрессией у человека (face validity), поскольку ей присущи ангедония, мотивационные нарушения, двигательная ретардация, повышение тревожности, снижение массы тела животных и др. При воспалении и депрессии без явных признаков воспаления у человека выявлено повышение уровней провоспалительных цитокинов. Кроме того, нарушения поведения животных при воспалении и симптомы депрессии корректируются при хроническом введении антидепрессантов (construct validity).

Реализация вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии у крыс осуществляли следующим образом (рис. 16). В течение первых 4 дней, предшествующих дню 1, определяли исходные параметры поведения крыс – время иммобилизации в плавательном тесте Порсолта и показатель предпочтения потребления раствора сахарозы. В день 1 под кожу спины крысам вводили флогоген – 9 % раствор уксусной кислоты. Начиная со следующего дня опытным крысам на протяжении 20 дней вводили исследуемые вещества – антидепрессанты и церебропротекторы, а контрольным крысам равное по объему количество растворителя.

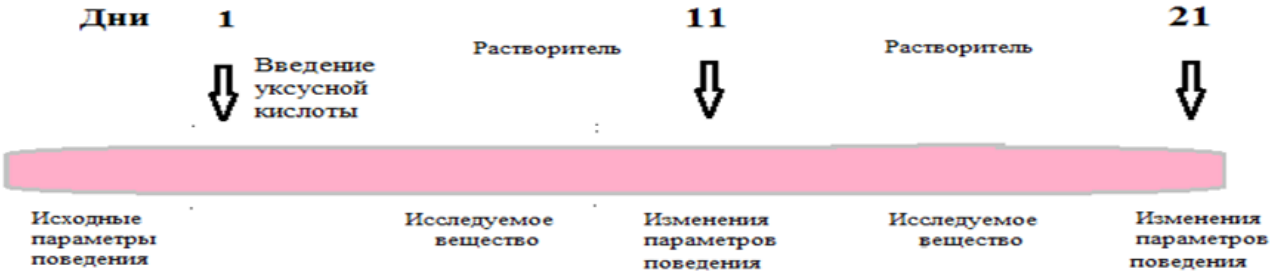

Рисунок 16 - Схема проведения исследований на модели вызванной хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Через 10 и 20 дней после введения уксусной кислоты (дни 11 и 21) определяли изменения параметров поведения крыс. Воспроизводимость депрессивного фенотипа поведения превышала 80 % в данной популяции крыс.

6.1 Влияние антидепрессантов на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы.

На 10-й день после введения уксусной кислоты у крыс наблюдали выраженный депрессивный фенотип поведения. Действительно, в этих условиях (табл. 22) зарегистрировано увеличение времени иммобилизации в тесте Порсолта до 123,2 ± 8,6 с против 59,4 ± 3,4 с у интактных животных (P = 0,00002) контрольных крыс. На 20-й день время иммобилизации крыс равнялось 117,4 ± 6,2 с. Выявлены также изменения других параметров этого теста: так время активного плавания сокращалось до 7,6 ± 3,3 с и 10,8 ± 3,1 с на 10-й и 20-й дни после введения флогогена против 21,5 ± 5,4 с у контрольных крыс.

Таблица 22 - Динамика изменений исследуемых параметров поведения при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии.

Исследуемые параметры поведения	Условия эксперимента		
	Интактный контроль	Введение растворителя в течение 10 дней	Введение растворителя в течение 20 дней
Продолжительность иммобилизации (с)	59,4 ± 3,4	123,2 ± 8,6*	117,4 ± 6,2*
% предпочтения потребления раствора сахарозы	81,9 ± 1,9	51,7 ± 2,4*	61,2 ± 2,7*

* - величины достоверно отличаются от интактного контроля при P < 0,05, с использованием U-критерия Манна–Уитни.

На фоне хронического воспаления мягких тканей спины у крыс наблюдали развитие ангедонии, которая проявлялась уменьшением привлекательности сладкого раствора, как позитивного подкрепления. Так на 10-й и 20-й дни после введения уксусной кислоты показатель предпочтения потребления раствора сахарозы уменьшался (табл. 22) от 81,9 ± 1,9 % в контроле до 51,7 ± 2,4 % (P = 0,0001) и 61,2 ± 2,7 % (P = 0,0005) соответственно. Параллельно наблюдали

недостоверную тенденцию к снижению потребления 1 % раствора сахарозы шестью крысами в течение 1 часа.

Хроническое введение трициклического антидепрессанта имипрамина на протяжении 20 дней обращало вызываемые хроническим воспалением нарушения поведения животных. Так время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания на 10-й и 20-й дни достоверно (Р < 0,05) уменьшалось до 30,6 ± 2,9 с и 25,0 ± 1,3 с соответственно против 123,2 ± 8,6 с и 117,4 ± 6, с у получавших растворитель крыс (табл. 23).

Таблица 23 - Влияние имипрамина, амитриптилина и кетамина на мотивационные и гедонические компоненты поведения крыс при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии.

Вводимые вещества	Время иммобилизации (с)		% предпочтения потребления раствора сахарозы	
	10-й день	20-й день	10-й день	20-й день
Контроль, растворитель	123,2 ± 8,6	117,4 ± 6,2	51,7 ± 2,4	61,2 ± 2,7
Имипрамин20 мг/кг	30,6 ± 2,9*	25,0 ± 1,3*	75,0 ± 3,3*	84,2 ± 4,1*
Амитриптилин 20 мг/кг	46,3 ± 4,2	38,5 ± 3,2	70,5 ± 2,9	83,4 ± 2,8
Кетамин 5 мг/кг однократно за 1 час до исследований	63,3 ± 5,2*	-	64,8 ± 2,3*	-

*- величины статистически значимо отличаются от контроля при Р < 0,05.

Достаточно сходные результаты получены при исследовании влияния используемых препаратов на гедонический компонент поведения крыс. в условиях хронического воспаления мягких тканей спины крыс. На 10-й и 20-й дни после введения флогогена показатели предпочтения потребления раствора сахарозы уменьшались до 51,7 ± 2,4 % и 61,2 ± 2,7 % соответственно (табл. 23). При хроническом же введении антидепрессанта имипрамина в дозе 20 мг/кг показатели теста предпочтения потребления раствора сахарозы на 10-й и 20-й дни исследования возрастали соответственно (табл. 23) до 75,0 ± 3,3 % (Р = 0,0002) и 84,2 ± 4,1 % (Р = 0,001).

Другой трициклический антидепрессант амитриптилин, обладающий выраженным седативным действием, оказывал сходное с имипрамином влияние на проявления вызываемой хроническим воспалением поведенческой депрессии. Действительно, на фоне хронического введения амитриптилина наблюдали достоверное уменьшение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до 46,3 ± 4,2 с и 38,5 ± 3,2 с соответственно на 10-й и 20-й дни после прекращения стрессогенного воздействия (табл. 23) против 123,2 ± 8,6 с и 117,4 ± 6,2 с у получавших растворитель крыс. Также в условиях хронического введения амитриптилина выявлено ослабление проявлений ангедонии. В этих условиях показатели предпочтения потребления раствора сахарозы возрастали 70,5 ± 2,9 и 83,4 ± 2,8 % против 51,7 ± 2,4 и 61,2 ± 2,7 % ($P < 0,05$) у крыс, которым вводили растворитель (табл. 23).

Обладающий быстроразвивающимся (в течение часов) антидепрессивным действием у больных резистентными к фармакотерапии формами депрессии кетамин также ослаблял исследуемые проявления поведенческой депрессии, вызванной хроническим воспалением мягких тканей спины. В самом деле, через 1 час после введения крысам кетамина в дозе 5 мг/кг время иммобилизации крыс на 10-й день после введения флогогена достоверно ($P < 0,05$) уменьшалось до 63,3 ± 5,2 с против 123,2 ± 8,6 с, а показатель предпочтения потребления раствора сахарозы, напротив, возрастал до 64,8 ± 2,3 % против 51,7 ± 2,4 % (табл. 23).

Таким образом, все исследуемые антидепрессанты, обладающие разными функциональными особенностями, обращали вызываемое хроническим воспалением нарушения поведения у крыс. Это позволяет сделать заключение, что наблюдаемые изменения поведения крыс являются проявлением депрессивного фенотипа поведения.

6.2 Влияние веществ с церебропротективной активностью на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы.

В главе 4 и 5 было установлено, что обладающие церебропротективной активностью препараты диакамф и соединение R-86, а также препарат сравнения пирацетам ослабляли повреждения релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов ПФК, вызываемые депрессогенными процедурами и ослабляли проявления вызванной хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии у крыс, и усиливали антидепрессивное действие имипрамина, амитриптилина и кетамина.

В этом разделе мы будем исследовать влияния церебропротекторов на проявления депрессивного фенотипа поведения другого патогенеза. Церебропротектор диакамф ослаблял проявления вызванной хроническим воспалением поведенческой депресии. Действительно, судя по данным таблицы 24 на 10-й и 20-й дни после введения уксусной кислоты время иммобилизации крыс в ПТП возрастало до 123,2 ± 8,6 с и 117,4 ± 6,2 с соответственно против 59,4 ± 3,4 с у интактного контроля (P = 0,0001).

Введение диакамфа в дозе 10 мг/кг на протяжении 10 дней после момента введения флогогена, приводило к уменьшению вызываемой хроническим воспалением угнетения мотивации избавления у крыс, на что указывает уменьшение времени иммобилизации животных до 88,6 ± 4,1 с (табл. 24) против 123,2 ± 8,6 с у крыс, которым в этот же промежуток времени вводили растворитель (P = 0,002). Дальнейшее введение диакамфа на протяжении следующей десятидневки еще в большей степени уменьшало уровень депрессивности крыс, судя по уменьшению времени иммобилизации крыс в

тесте вынужденного плавания до 48,2 ± 3,6 с по сравнению с 117,4 ± 6,2 с у крыс, получавших растворитель (табл. 24).

Таблица 24 - Влияние хронического введения диакамфа в дозе 10 мг/кг на продолжительность иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у крыс с вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессией.

Параметры	Условия эксперимента				
	Интактный контроль	Введение растворителя в течение 10 дней	Введение диакамфа в течение 10 дней	Введение раствори-теля в течение 20 дней	Введение диакамфа в течение 20 дней
Продолжитель-ность иммобили-зации (с)	59,4 ± 3,4	123,2 ± 8,6*	88,6 ± 4,1#	117,4 ± 6,2*	48,2 ± 3,6+
% предпочтения потребления раст-вора сахарозы	81,9 ± 1,9	51,7 ± 2,4*	55,5 ± 2,7	61,2 ± 2,7*	80,2 ± 3,1+

* - величины достоверно отличаются от интактного контроля при P < 0,05;

и + - величины достоверно отличаются от контрольного повреждающего воздействия на 10-й и 20-й день соответственно при P < 0,05, с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Нарушения в системе вознаграждения крыс проявлялись снижением показателя предпочтения потребления раствора сахарозы на фоне хронического воспаления мягких тканей спины. На 10-й и 20-й дни течения воспаления этот показатель снижался (см. табл. 24) до 51,7 ± 2,4 % и 61,2 ± 2,7 % соответственно (P < 0,05) по сравнению с величиной этого показателя 81,9 ± 1,9 % у интактного контроля (табл. 22).

Влияние хронически вводимого диакамфа на ангедонию было слабее по сравнению с его влиянием на нарушения мотивации избавления от угрожающей ситуации у крыс в условиях хронического воспаления. Так на 10-й день введения препарата показатель предпочтения потребления раствора сахарозы составлял 55,5 ± 2,7 % и практически не отличался от показателя у крыс, которым вводили

растворитель 51,7 ± 2,4 % (P = 0,32; табл. 24). Однако после 20 дней введения диакамф уменьшал выраженность ангедонии, увеличивая показатель предпочтения до 80,2 ± 3,1 % (P = 0,001) против 61,2 ± 2,7 % у крыс, получавших растворитель (табл. 24).

Таким образом, диакамф в условиях хронического введения демонстрирует антидепрессивное действие при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии. Это действие проявляется снижением времени иммобилизации (уменьшение угнетения мотивации избавления) и ослаблением ангедонии. В тоже время влияние диакамфа на поведенческую депрессию отличается от влияния классических антидепрессантов на исследуемые параметры поведения.

В самом деле, при сравнении антидепрессивного действия хронически вводимого хотя бы имипрамина в дозе 20 мг/кг с антидепрессивным действием хронически вводимого диакамфа в дозе 10 мг/кг выявлены следующие различия. Так, диакамф после 10 дней введения уменьшал время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до 88,6 ± 4,1 с (табл. 24), но на показатель предпочтения потребления сладкого раствора достоверного влияния не оказывал (табл. 24).

Имипрамин в этот промежуток времени достоверно (P = 0,0001) в значительно большей степни снижал время иммобилизации крыс до 30,6 ± 2,9 с против 123,2 ± 8,6 с в контроле, а показатель предпочтения потребления раствора сахарозы увеличивал от 51,7 ± 2,4 % до 75,0 ± 3,3 % (P = 0,02; табл. 23). Такие же различия динамики и интенсивности действия диакамфа характерны и для другого исследуемого антидепрессанта амитриптилина (табл. 23 и 24).

Другой церебропротектор соединение R-86 также демонстрирует антидепрессивное действие при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии у крыс. Введение крысам соединения R-86 в дозе 10 мг/кг после 10 дней снижало показатель мотивационных нарушений у животных

до 71,6 ± 6,0 с против 123,2 ± 8,6 с (P = 0,0012), а после 20 дней введения до 55,2 ± 3,6 с против 117,4 ± 6,2 с у крыс, которым вводили на протяжении указанного времени растворитель (P = 0,0001; табл. 25).

Таблица 25 - Влияние хронического введения соединения R-86 в дозе 10 мг/кг на продолжительность иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у крыс с вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессией.

Параметры	Условия эксперимента				
	Интактный контроль	Введение растворителя в течение 10 дней.	Введение R-86 в течение 10 дней	Введение растворителя в течение 20 дней	Введение R-86 в течение 20 дней
Продолжительность иммобилизации (с)	59,4 ± 3,4	123,2 ± 8,6*	71,6 ± 6,0#	117,4 ±6,2*	55,2 ±3,6+
% предпочтения потребления раствора сахарозы	81,9 ± 1,9	51,7 ± 2,4*	72,7 ± 3,1#	61,2 ± 2,7*	78,9 ±3,4+

* - величины достоверно отличаются от интактного контроля при P < 0,05;

и + - величины достоверно отличаются от контрольного повреждающего воздействия на 10-й и 20-й день соответственно при P < 0,05, с использованием U-критерия Манна–Уитни.

При хроническом воспалении мягких тканей спины у крыс наблюдали развитие ангедонии, которая проявлялась достоверным (P < 0,05) снижением величины показателя предпочтения потребления сахарозы от 81,9 ± 1,9 % у интактных крыс до 51,7 ± 2,4 % и 61,2 ± 2,7 % но 10-й и 20-й дни после введения флогогена соответственно (табл. 25). Хроническое введение соединения R-86 крысам в дозе 10 мг/кг после 10 дней увеличивало показатель предпочтения потребления до 72,7 ± 3,1 % против 51,7 ± 2,4 %, а после 20 дней введения препарата – до 78,9 ± 3,4 % против 61,2 ± 2,7 % у крыс, которым вводили растворитель соответственно (табл. 25; P < 0,05).

Таким образом, производное оксиндола соединение R-86 при хроническом введении крысам в дозе 10 мг/кг оказывало выраженное антидепрессивное действие при поведенческой депрессии, вызванной как хроническим плавательным стрессом, так и воспалением мягких тканей спины. В тоже время, антидепрессивное действие соединения R-86 в большей степени по сравнению с аналогичным действием диакамфа более близко к антидепрессивному действию имипрамина и амитриптилина (табл. 23 и 25).

Далее представлены результаты исследований влияния позитивного референтного препарата пирацетама, хронически вводимого в дозе 100 мг/кг на протяжении 20 дней на параметры поведения крыс при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии (табл. 26).

Таблица 26 - Влияние хронического введения пирацетама в дозе 100 мг/кг на время иммобилизации и показатели предпочтения потребления раствора сахарозы у крыс с вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессией.

Исследуемые параметры	Условия эксперимента				
	Интактный кон-троль	Введение раствори-теля в течение 10 дней	Введение пирацетама в тече-ние 10 дней	Введение растворителя в течение 20 дней	Введение пирацетама в течение 20 дней
Продолжитель-ность иммобили-зации (с)	59,4 ± 3,4	123,2 ± 8,6*	63,6 ± 2,4#	117,4 ± 6,2*	43,0 ± 4,0+
% предпочтения потребления раствора сахарозы	81,9 ± 1,9	51,7 ± 2,4*	66,7 ± 2,5#	61,2 ± 2,7*	81,8 ± 4,2+

* - величины достоверно отличаются от интактного контроля при P < 0,05;

и + - величины достоверно отличаются от контрольного повреждающего воздействия на 10-й и 20-й дни соответственно при P < 0,05, с использованием U-критерия Манна–Уитни.

В условиях развившегося экспериментального депрессивного синдрома у крыс пирацетам проявлял антидепрессивную активность. Однократное введение пирацетама в дозе 100 мг/кг в первый день после прекращения стрессогенного воздействия не оказывало влияния на продолжительность иммобилизации и активного плавания крыс, как и однократное введение диакамфа или соединения R-86, в отличие от антидепрессантов – имипрамина или амитриптилина, которые даже при однократном введении уменьшали продолжительность иммобилизации. Однако, как следует из таблицы 26, хроническое введение пирацетама в течение 10 дней вызывало снижение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до 63,6 ± 2,4 с против 123,2 ± 8,6 с у крыс, которым вводили растворитель (P = 0,028). После 20 дней хронического введения пирацетама время иммобилизации крыс уменьшалось еще в большей степени до 43,0 ± 4,0 с против 117,4 ± 6,2 с у крыс, которым вводили растворитель (P = 0,0006).

Подобным образом пирацетам в условиях хронического введения оказывал оптимизирующее влияние на гедоническую составляющую поведения крыс (табл. 26). В этих условиях десятидневное введение пирацетама в дозе 100 мг/кг приводило к увеличению предпочтения потребления сахарозы от 51,7 ± 2,4 % до 66,7 ± 2,7 % (P = 0,02), а двадцатидневное введение ноотропа также увеличивало этот показатель от 61,2 ± 2,7 % до 81,8 ± 4,2 % (P = 0,006).

Таким образом, результаты этого раздела исследования однозначно указывают на то, что позитивный референтный препарат с церебропротективной активностью пирацетам в условиях хронического введения ослабляет проявления поведенческой депрессии, вызываемой хроническим воспалением, т. е. проявляет антидепрессивное действие, также как диакамф и соединение R-86. По характеру влияния на проявления поведенческой депрессии, вызванной хроническим воспалением мягких тканей спины, пирацетам ближе к антидепрессантам и соединению R-86, нежели к диакамфу.

Проведение исследований влияния негативного референтного препарата дексаметазона на проявления вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии мы сочли некорректным, поскольку дексаметазон обладает выраженным противовоспалительным действием и это может существенно повлиять на поведение крыс.

6.3 Исследования влияния веществ с церебропротективной активностью на эффекты антидепрессантов.

В данном разделе исследования мы попытались выяснить влияние церебропротекторов, которые улучшают функциональное состояние мозга, на поведение животных и антидепрессивную активность имипраина, амитриптилина и кетамина в условиях моделирования депрессивного синдрома, вызываемого хроническим воспалением мягких тканей спины.

Хроническое введение имипрамина в дозе 20 мг/кг оказывало типичное антидепрессивное действие при вызванной хроническим воспалением мягких тканей спины у крыс. Это проявлялось снижением времени иммобилизации животных в тесте вынужденного плавания и возрастанием величин показателя предпочтения потребления раствора сахарозы после 10 и 20 дней введения антидепрессанта (табл. 27).

Введение в тех же условиях имипрамина в дробной дозе 5 мг/кг на исследуемые показатели поведения крыс достоверного влияния не оказывало (табл. 27). После 10 дней комбинированного введения ¼ дозы имипрамина и ½ дозы диакамфа (5 мг/кг) не выявлено значимых изменений времени иммобилизации животных: имипрамин 5 мг/кг - 106,6 ± 5,4 с, диакамф 5 мг/кг –

83,3 ± 4,2 с, совместное введение – 89,6 ± 6,4 с (Р >> 0,05; табл. 67). В тот же промежуток времени комбинированное введение имипрамина и диакамфа в тех дозах не оказывало существенного влияния на показатели предпочтения потребления сладкого раствора: 50,2 ± 2,7 %, 62,8 ± 3,2 % и 62,7 ± 4,6 % соответственно (табл. 27). Однако после 20 дней комбинированного введения ¼ дозы имипрамина и ½ дозы диакамфа выявили достоверное снижение времени иммобилизации крыс до 69,4 ± 4,9 с против 117,4 ± 6,2 с и 98,6 ± 7,2 с у крыс, которым вводили растворитель и имипрамин в дозе 5 мг/кг соответственно (Р < 0,05; табл. 27).

Таблица 27 - Влияние имипрамина, диакамфа и их комбинации на мотивационные и гедонические компоненты поведения крыс при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии.

Вводимые вещества	Время иммобилизации (с)		% предпочтения потребления раствора сахарозы	
	10-й день	20-й день	10-й день	20-й день
Контроль без веществ	123,2 ± 8,6	117,4 ± 6,2	51,7 ± 2,4	61,2 ± 2,7
Имипрамин 20 мг/кг	30,6 ± 2,9*	25,0 ± 1,3*	75,0 ± 3,3*	84,2 ± 4,1*
Имипрамин 5 мг/кг	106,6 ± 5,4	98,6 ± 7,2	50,2 ± 2,7	53,3 ± 2,6
Диакамф 5 мг/кг	83,3 ± 4,2*	65,8 ± 4,1*	62,8 ± 3,2*	71,6 ± 2,9*
Имипрамин 5 мг/кг + Диакамф 5 мг/кг	89,6 ± 6,4	69,4 ± 4,9#	62,7 ± 4,6	88,8 ± 4,7#

*- величины статистически значимо отличаются от контроля при Р < 0,05;

- величины статистически значимо отличаются от величин, характеризующих действие имипрамина в дозе 5 мг/кг при Р < 0,05, с использованием U-критерия Манна–Уитни.

В тех же условиях значимо возрастала величина показателя предпочтения потребления раствора сахарозы до 88,8 ± 4,7 % против 61,2 ± 2,7 % и 53,3 ± 2,6

% (табл. 27). Количественная оценка указывает на то, что совместное влияние имипрамина и диакамфа на мотивационные нарушения у крыс при хроническом воспалении реализуется на уровне аддитивного синергизма, в то время как диакамф потенцирует влияние имипрамина на гедонический компонент поведения.

Хроническое введение антидепрессанта амитриптилина в дозе 20 мг/кг уменьшало (табл. 28) время иммобилизации крыс к 10 дню до 46,3 ± 4,2 с (P = 0,012), а к 20 дню до 38,3 ± 3,2 с (P = 0,002). В тоже время, хроническое введение «неработающей» дозы амитриптилина (5 мг/кг) достоверных изменений времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания не вызывало. Так, после 10 дней введения время иммобилизации равнялось 109,6 ± 5,2 с, а после 20 дней введения 96,6 ± 8,2 с. Введение соединения R-86 в половинной дозе (5 мг/кг) вызывало уменьшение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до 56,3 ± 7,7 с и 52,7 ± 5,8 с на 10-й и 20-й дни соответственно (табл.28).

В тоже время, при хроническом совместном введении крысам ¼ от «работающей» дозы амитриптилина (5 мг/кг) и ½ дозы соединения R-86 (5 мг/кг) наблюдали существенные изменения исследуемых параметров поведения. Так после 10 дней введения исследуемых веществ время иммобилизации крыс равнялось 36,5 ± 3,4 с, а после 20 дней введения 21,8 ± 3,7 с (табл. 28).

После 10 и 20 дней хронического введения амитриптилин в дозе 20 мг/кг оказывал корригирующее влияние показатели предпочтения потребления сладкого раствора, существенно уменьшенные на фоне хроническим воспалением поведенческой депрессии у крыс. Так, исследуемый показатель возрастал до 70,5 ± 2,9 % и 83,4 ± 2,8 % против 51,7 ± 2,4 % и 61,2 ± 2,7 % у животных, которым вводили растворитель на 10-й и 20-й дни соответственно (табл. 28).

Таблица 28 - Влияние амитриптилина, соединения R-86 и их комбинации на мотивационные и гедонические компоненты поведения крыс при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии.

Вводимые вещества	Время иммобилизации (с)		% предпочтения потребления раствора сахарозы	
	10-й день	20-й день	10-й день	20-й день
Контроль без веществ	123,2 ± 8,6	117,4 ± 6,2	51,7 ± 2,4	61,2 ± 2,7
Амитриптилин 20 мг/кг	46,3 ± 4,2*	38,3 ± 3,2*	70,5 ± 2,9*	83,4 ±2,8*
Амитриптилин 5 мг/кг	109,6 ± 5,2	96,6 ± 8,2	66,5 ± 7,6	60,1 ± 2,7
R-86 5 мг/кг	56,3 ± 7,7*	52,7 ± 5,8*	76,4 ± 2,3	77,6 ± 4,5
Амитриптилин 5 мг/кг + R-86 5 мг/кг	36,5 ± 3,4#	21,8 ± 3,7#	80,3 ± 4,8#	81,2 ± 3,2#

*- величины статистически значимо отличаются от контроля при P < 0,05; # - величины статистически значимо отличаются от величин, характеризующих действие имипрамина в дозе 5 мг/кг при P < 0,05, с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Хроническое введение амитриптилина в «неработающей» дозе 5 мг/кг не вызывал достоверных изменений показателей предпочтения потребления раствора сахарозы, как на 10-й, так и на 20-й дни введения антидепрессанта о чем свидетельствуют величины данного показателя 66,5 ± 7,6 % и 60,1 ± 2,7 % соответственно (табл. 28). Введение соединения R-86 в половинной дозе (5 мг/кг) вызывало рост величин показателей предпочтения потребления сахарозы до 76,4 ± 2,3 % и 77,6 ± 4,5 % на 10-й и 20-й дни соответственно (табл. 28). При хроническом совместном введении крысам ¼ дозы амитриптилина (5 мг/кг) и ½ дозы соединения R-86 (5 мг/кг) наблюдали существенные изменения исследуемых параметров поведения. Так, после 10 дней введения исследуемых веществ величины показателей предпочтения потребления сладкого раствора равнялись 80,3 ± 4,8 %, а после 20 дней введения 81,2 ± 3,2 % (табл. 28).

Таким образом, при вызванной хроническим воспалением мягких тканей спины поведенческой депрессии, как и при стресс-индуцированной поведенческой депрессии, введение парциальных доз амитриптилина и соединения R-86 в сумме меньших (½ + ¼), чем полная доза любого из этих веществ, наблюдали больший или такой же эффект, как от целой дозы вещества (табл. 28). Это указывает на то, что соединение R-86 потенцирует антидепрессивное действие амитриптилина.

Исследования влияния позитивного референтного препарата с церебропротективной активностью пирацетама на антидепрессивное действие имипрамина дали следующие результаты. При хроническом введении антидепрессанта имипрамина в дозе 20 мг/кг время иммобилизации крыс снижалось до 30,6 ± 2,9 с и 25,0 ± 1,3 с, а показатели теста предпочтения потребления раствора сахарозы на 10-й и 20-й дни исследования возрастали соответственно (табл. 29) до 75,0 ± 3,3 % (P = 0,0002) и 84,2 ± 4,1 % (P = 0,001). Имипрамин, используемый в меньше дозе – 5 мг/кг, не оказывал влияния на показатели поведения животных, измененные в условиях хронического воспаления (табл. 29).

Используемый в половинной дозе пирацетам ослаблял мотивационные нарушения и проявления вызванной воспалением ангедонии (табл. 29). При хроническом введении комбинации имипрамин 5 мг/кг + пирацетам 50 мг/кг наблюдали отчетливое угнетение как мотивационных нарушений, судя по уменьшению времени иммобилизации крыс до 66,6 ± 3,4 с и 39,4 ± 2,9 с против 59,4 ± 3,4 с в контроле, так и вызываемой хроническим воспалением ангедонии, судя по увеличению показателей теста предпочтения потребления сахарозы до 72,7 ± 3,6 % (P = 0,001) и 88,8 ± 3,4 % (P = 0,003) на 10-й и 20-й дни исследования соответственно (табл. 29).

Таблица 29 - Влияние имипрамина, пирацетама и их комбинации на мотивационные и гедонические компоненты поведения крыс при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии.

Препараты	Время иммобилизации (с)		% предпочтения потребления раствора сахарозы	
	10-й день	20-й день	10-й день	20-й день
Контроль, растворитель	123,2 ± 8,6	117,4 ± 6,2	51,7 ± 2,4	61,2 ± 2,7
Имипрамин 20 мг/кг	30,6 ± 2,9*	25,0 ± 1,3*	75,0 ± 3,3*	84,2 ± 4,1*
Имипрамин 5 мг/кг	106,6 ± 5,4	98,6 ± 7,2	50,2 ± 2,7	53,3 ± 2,6
Пирацетам 50 мг/кг	83,3 ± 4,2*	65,8 ± 4,1*	62,8 ± 3,2*	71,6 ± 2,9*
Имипрамин 5 мг/кг + Пирацетам 50 мг/кг	66,6 ± 3,4#	39,4 ± 2,9#	72,7 ± 3,6#	88,8 ± 4,7#

*- величины статистически значимо отличаются от контроля при P < 0,05;

- величины статистически значимо отличаются от величин, характеризующих действие имипрамина в дозе 5 мг/кг при P < 0,05, с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Таким образом, поскольку эффект комбинации ¼ дозы имипрамина + ½ дозы пирацетама дает такой же эффект, как полная доза имипрамина (табл. 29), то в соответствии с законами общей фармакологии можно считать, что пирацетам при хроническом введении усиливает (потенцирует) эффекты имипрамина.

Вещества с церебропротективной активностью облегчают и усиливают поведенческие эффекты быстродействующего антидепрессанта кетамина. Действительно, введение этого антидепрессанта в дозе 5 мг/кг на фоне хронического введения соединения R-86 в дозе 10 мг/кг вызывало достоверно (P = 0,003) большее снижение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания до 53,4 ± 3,7 с против 70,3 ± 3,4 с у крыс, которым вводили растворитель (табл. 30). В меньшей степени соединение R-86 в условиях

хронического введения увеличивал показатель предпочтения потребления сахарозы – до 76,5 ± 3,4 % против 64,3 ± 2,5 % у получавших растворитель крыс (табл. 30).

Сходным действием обладал референтный церебропротектор пирацетам. Препарат в условиях хронического в течение 10 дней введения уменьшал вызываемое введением кетамина время иммобилизации крыс до 67,7 ± 3,4 с, а показатель предпочтения потребления сладкого раствора увеличивал до 70,9 ± 1,8 % против 70,3 ± 3,4 с и 64,3 ± 2,5 % соответственно у крыс которым кетамин вводили на фоне хронического введения растворителя (табл. 30).

Таблица 30 - Влияние кетамина на фоне хронического введения соединения R-86 и пирацетама на поведенческие реакции у крыс при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии.

Вводимые препараты	Время иммобилизации (с)	% предпочтения потребления раствора сахарозы
Контроль (растворитель)	59,4 ± 3,4	81,9 ± 1,9
10-й день после прекращения плавательного стресса (растворитель)	123,2 ± 8,6*	51,7 ± 2,4*
Кетамин 5 мг/кг через 1 час после введения	70,3 ± 3,4#	64,3 ± 2,5#
Кетамин 5 мг/кг на фоне хронического введения соединение R-86 10 мг/кг	53,4 ± 3,7+	76,5 ± 3,4+
Кетамин 5 мг/кг на фоне хронического введения пирацетама 100 мг/кг	67,7 ± 3,4+	70,9 ± 1,8+

*- величины статистически значимо отличаются от контроля при P < 0,05;

- величины статистически значимо отличаются от величин у крыс, получавших растворитель;+ - величины статистически значимо отличаются от величин у крыс, получавших кетамин на фоне растворителя при P < 0,05 с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Результаты этой серии опытов указывают на то, что церебропротекторы усиливают поведенческие эффекты и кетамина, как антидепрессанта в условиях вызываемой хроническим воспалением поведенческой депрессии.

ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первая задача, которую необходимо было решить в этом исследовании – изучить особенности спектра церебропротективной активности диакамфа, соединения R-86 и препаратов сравнения. По предварительным данным, представленным разработчиками диакамфа, у препарата была обнаружена церебропротективная активность, проявляющаяся увеличением выживания животных, подвергнутых воздействию острой церебральной ишемии или травматических повреждений мозга. Однако природа церебропротективной активности диакамфа на клеточном и субклеточном уровнях специально не исследовалась. Для уточнения представлений о механизме этой активности мы провели исследования на переживающих срезах гиппокампа крыс. Установлено, что при воздействии препарата на срезы гиппокампа он не оказывал влияния на глутаматергическую и ГАМКергическую системы мозга, кроме укорочение продолжительности комплексных пВПСП пирамидных нейронов и их НМДА компонентов при воздействии на срезы концентраций диакамфа, соответствующим системно вводимым дозам 10 мг/кг и выше. Препарат при аппликации к срезам не оказывал влияния на повреждения гиппокампа, вызываемые эксайтотоксическим действием N-метил-D-аспартата, процедурой аноксии и нейроагликемии, но умеренно ослаблял вызываемые оксидативным стрессом повреждения нейронов. Однако при системном введении в дозе 10 мг/кг диакамф усиливал синаптическую передачу в гиппокампе за счет усиления пресинаптического высвобождения глутамата, и демонстрировал достоверную антианоксическую активность; но даже в этих условиях не влиял на эксайтотоксичность (табл. 1). Тем не менее, при хроническом введении препарат демонстрировал выраженную антиоксидантную и антианоксическую активность.

Ослабление аноксических повреждений тканей мозга при применении диакамфа связывают с влиянием на процессы окислительного фосфорилирования. Аноксические повреждения мозга сопровождаются существенным снижением уровня АТФ и усилением гликолитических процессов, о чем свидетельствует почти четырехкратное повышение уровня лактата. После введения диакамфа в дозе 10 мг/кг наблюдали повышение уровня АТФ и пирувата в тканях передних отделах мозга на 56,3 % и 35,2 % соответственно; при этом уровни АМФ и лактата снижались на 30,9 % и 27,3 % соответственно [30]. Эти данные свидетельствуют об усилении процессов аэробного окисления метаболитов глюкозы.

Второй компонент нейропротективной активности диакамфа – его антиоксидантная активность. При нейродегенеративных процессах, в том числе и при воздействии хронического стресса и воспаления, наблюдается усиление процессов перекисного окисления липидов. Так, при моделировании болезни Паркинсона у крыс выявлено повышение уровней промежуточных и конечных продуктов липопероксидации диеновых конъюгатов в 2,34 раза и малонового альдегида в 1,88 раза [16]. Системное введение диакамфа животным сопровождалось снижением уровней диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в тканях мозга, которые были повышены при различных повреждениях мозга [28]. В тоже время, остается не ясным либо диакамф непосредственно взаимодействует с активными формами кислорода, либо прямо или косвенно стимулирует антиоксидантную систему.

В исследованиях разработчиков соединения R-86 установлено, что препарату присуща антигипоксическая активность, которая проявлялась увеличением продолжительности жизни крыс на 33,7 % при нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией, уменьшением уровней маркеров гибели нейронов и глиальных клеток, а также титра кортизола в оттекающей от мозга венозной крови при моделировании ишемического инсульта у гербелл [5,

6, 30]. В тоже время, отсутствуют представления о клеточных механизмах церебропротективного действия соединения R-86.

При воздействии на срезы гиппокампа соединение R-86 оказывало умеренное влияние на глутаматергическую синаптическую передачу в пирамидных нейронах области CA1. Препарат достоверно снижал амплитуду НМДА компонентов комплексных пВПСП пирамидных нейронов. При хроническом введении соединение R-86 усиливало синаптическую передачу в пирамидных нейронах за счет усиления пресинаптического высвобождения медиатора. При воздействии на срезы гиппокампа исследуемый препарат в концентрации соответствующей системно вводимой дозе 10 мг/кг обнаруживал умеренно выраженную способность уменьшать вызванные воздействием N-метил-D-аспартата эксайтотоксические повреждения пирамидных нейронов и более выраженную антиоксидантную активность, но не препятствовал аноксическим повреждениям пирамидных нейронов гиппокампа. Однако при системном введении в дозе 10 мг/кг соединение R-86 обнаруживало умеренную антигипоксическую активность, но существенно ослабляло повреждения пирамидных нейронов, вызываемые воздействием H_2O_2, т. е. оксидативным стрессом (табл. 2). Следовательно, соединение R-86 обладает церебропротективной активностью, которая обусловлена его антагонизмом с глутаматом на уровне НМДА глутаматных рецепторов и антиоксидантной активностью; в тоже время, слабая антианоксическая активность препарата, по-видимому, является вторичной и обусловлена двумя первыми механизмами.

Таким образом, становится очевидным, что исследуемые вещества – диакамф и соединение R-86 – обладают индивидуальным спектром церебропротективной активности, компонентами которой являются противодействие оксидативному стрессу, антианоксическое и антиэксайтотоксическое действие.

Позитивным референтным препаратом по отношению к диакамфу и соединению R-86 является классический церебропротектор ноотроп пирацетам. В условиях хронического внутрибрюшинного введения крысам в дозе 100 мг/кг пирацетам ослаблял повреждение пирамидных нейронов области CA1 дорсального гиппокампа, вызываемые процедурой аноксии и агликемии. Менее выраженную церебропротективную активность в исследованиях на срезах гиппокампа пирацетам проявлял при повреждениях пирамидных нейронов, вызываемых эксайтотоксическим действием N-метил-D-аспартата, и при воздействии на срезы мозга перекиси водорода в концентрации 1 мМ (табл. 3).

Помимо церебропротективной активности пирацетам оказывал влияние на глутаматергическую синаптическую передачу в дорсальном гиппокампе. При однократном воздействии на срезы гиппокампа пирацетам демонстрирует свойства AMPAкина, т. е. увеличивает амплитуду синаптических ответов за счет потенцирования AMPA компонента пВПСП (табл. 4). Потенцирующее действие пирацетама на пВПСП обусловлено ослаблением вызываемой воздействием глутамата десенситизации (деактивации) AMPA глутаматных рецепторов, что присуще AMPAкинам [35]. При хроническом введении пирацетам, наряду с AMPA-потенцирующим действием, усиливал пресинаптическое высвобождение медиатора из аксонных терминалей, на что указывает снижение величины парного отношения пВПСП при межимпульсном интервале 50 мс, а также повышал амплитуду опосредуемых активацией НМДА глутаматных рецепторов синаптических ответов (табл. 3), что может быть следствием повышения плотности или, более вероятно, хемосенситивности этих рецепторов.

Церебропротективная активность пирацетама, выявленная в наших исследованиях, может быть обусловлена оптимизацией обменных процессов в тканях мозга. Поскольку пирацетам наиболее эффективно препятствовал повреждению пирамидных нейронов гиппокампа, вызываемых процедурой аноксии и агликемии (табл. 3), можно думать, что пирацетам усиливает образование макроэргических фосфатов. Действительно, в условиях гипоксии

пирацетам интенсифицирует синтез АТФ, активирует пентозфосфатный цикл, усиливает образование НАДФН, улучшает функциональное состояние митохондрий [11, 104].

Ослабление пирацетамом повреждений пирамидных нейронов гиппокампа, вызываемых перекисью водорода (табл. 3), обусловлено его антиоксидантной активностью. Пирацетам не взаимодействует с активными формами кислорода, но вызываемая пирацетамом активация пентозофосфатного цикла приводит к образованию метаболитов, нейтрализующих свободные радикалы и препятствующих перекисному окислению липидов мембран нейронов [11]. Что касается природы ослабления пирацетамом эксайтотоксического повреждения пирамидных нейронов гиппокампа, она не ясна. Вероятно, в обусловленном пирацетамом ослаблении повреждения пирамидных нейронов гиппокампа, вызываемого N-метил-D-аспартатом, существенную роль играет усиление функциональной активности AMPA глутаматных рецепторов (табл. 4). Установлено, что деполяризация нейронов, опосредуемая активацией AMPA глутаматных рецепторов, усиливает высвобождение нейротрофина BDNF, который обладает выраженным нейропротективным действием [120].

Другой позитивный препарат сравнения – неконкурентный блокатор НМДА глутаматных рецепторов кетамин, используемый в субанестетической дозе. Кетамину по сравнению с другими исследуемыми препаратами присуща выраженная антиэксайтотоксическая активность (табл. 5). Помимо этого, препарат обладает умеренным антиоксидативным действием и выраженным антианоксическим действием (табл. 5). Церебропротективное действие кетамина кардинально отличается от такового других исследуемых препаратов. Это касается прежде всего скорости развития данного эффекта, который проявляется уже через 1 час после однократного введения препарата. Наблюдаемые изменения связывают со способностью кетамина стимулировать дендритную трансляцию ряда синаптических белков, в том числе ГлуА1 субъединицу AMPA

глутаматных рецепторов и встраивание их в постсинаптическое уплотнение. Действительно, на фоне действия кетамина наблюдается возрастание ответов пирамидных нейронов, связанных с активацией AMPA глутаматных рецепторов. Последняя обеспечивает более интенсивное высвобождение нейротрофина BDNF, который обладает мощным церебропротективным действие [227]. С вызываемой кетамином блокадой НМДА глутамтных рецепторов вероятно связано антиоксидантное и антианоксическое его действие. НМДА глутамтные рецепторы, особенно содержащие в своей структуре GluN2B субъединицу, обладают высокой проводимостью для Ca^{2+} и активация рецепторов вызывает повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+}. Избыток Ca^{2+} в цитоплазме нейронов повреждает мембраны митохондрий и это приводит к нарушению продукции АТФ и усилению образования свободных радикалов [52].

В отличие от диакамфа и соединения R-86, а также позитивных референтных препаратов пирацетама и кетамина, которые ослабляли повреждения пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа, вызываемые используемыми процедурами, негативный референтный препарат дексаметазон усиливал их. Действительно, двухдневное воздействие дексаметазона на крыс в дозе 0,5 мг/кг существенно усиливало повреждающее действие используемых процедур на пирамидные нейроны области CA1 гиппокампа. Так повреждающее влияние оксидативного стресса возрастало в 3,3 раза. На фоне действия дексаметазона процедура аноксии/нейроагликемии полностью угнетала синаптическую передачу в радиальном слое области CA1 гиппокампа крыс; в 2,7 раза усиливалось эксайтотоксическое повреждение пирамидных нейронов гиппокампа в присутствии дексаметазона (табл. 6). Повреждающее действие избытка глюкокортикоидов на мозг обусловлено несколькими моментами. Глюкокортикоиды угнетают поглощение глюкозы нейронами и глией и нарушают процессы энергообразования. Эти вещества нарушают клиренс глутамата из синапсов и способствуют повышению концентрации медиатора во внеклеточных пространствах до эксайтотоксического уровня. Далее,

кортикостероиды нарушают кальциевый гомеостаз нейронов за счет усиления экспрессии п/з кальциевых каналов, ослабления поглощения Ca2+ во внутриклеточные хранилища и возрастания их цитоплазматической концентрации и активации кальпаинов, разрушающих органеллы нейронов. Наконец, глюкокортикоиды угнетают образование и высвобождение нейротрофинов [37, 85, 227].

В следующем разделе работы мы пытались выяснить как депрессогенные процедуры нарушают функциональную активность пирамидных нейронов ключевой структуры лимбической системы ПФК, и способны ли исследуемые вещества с церебропротективной активностью ослабить эти нарушения.

При тяжелом течении большой депрессии, особенно после нескольких повторных эпизодов заболевания, выявлено, как отмечалось в обзоре литературы, снижение объема некоторых лимбических структур мозга, в частности, гиппокампа, разных отделов ПФК, прилежащего ядра. Очевидно, что этим грубым морфологическим повреждениям лимбических структур мозга предшествуют ранние функциональные нарушения.

На фоне вызываемого хроническим воспалением поведенческой депрессии выявлено достоверное снижение субмаксимальных амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПЛК (проекционные нейроны) за счет угнетения их АМРА и в меньшей степени НМДА компонентов (рис. 9). Помимо этого, наблюдали также угнетение экспрессии ДП синаптической передачи, т. е. нарушение пластических свойств синапсов (рис. 10, табл. 7). В синапсах пирамидных нейронов поверхностных II/III слоев ПРК вызываемые воспалением повреждения проявлялись, главным образом, нарушением их пластических свойств, т. е. угнетением развития ДП синаптической передачи (табл. 7).

Изменения релейных свойств синапсов пирамидных нейронов V слоя ПЛК на фоне действия резерпина были такими же, как и в предыдущем случае, т. е. наблюдали снижение амплитуд комплексных пВПСП и их АМРА и НМДА

компонентов (рис. 11). Во II/III слоях и в V слое ПРК, нарушения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов сопровождались угнетением экспрессии ДП синаптической передачи (табл. 7).

Вызываемые хроническим воспалением изменения функциональной активности пирамидных нейронов ПЛК могут быть следствием повышения уровня в мозге провоспалительных цитокинов – интерлейкинов-1 и -6, а также фактора некроза опухолей альфа. Рецепторы указанных цитокинов ко-локализованы в мембранах пирамидных нейронов II/III и V слоев мПФК с ионофорными глутаматными рецепторами, но разное распределение этих рецепторов и неодинаковое влияние на НМДА и АМРА глутаматные рецепторы и определяет вызываемое ими нарушение релейных и пластических свойств синапсов пирамидных нейронов [228]. С другой стороны, введение резерпина вызывает активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и рост уровней кортикостерона в крови и мозге крыс, который снижает плотность АМРА и НМДА глутаматных рецепторов в постсинаптических уплотнениях нейронов ПРК [224]. Помимо этого, вымывание моноаминов в мозге при действии резерпина изменяет активацию моноаминовых рецепторов и уровень фосфорилирования постсинаптических АМРА и НМДА глутаматных рецепторов [224].

Воспроизведение используемых форм поведенческой депрессии на фоне хронического введения имипрамина ослабляло вызываемое хроническим воспалением и дефицитом моноаминов в мозге угнетение амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПЛК. Действительно, в этих условиях (рис. 13) воспаление снижало амплитуды потенциалов на 10,5 %, в то время как у интактного контроля эта величина составляла 26,7 %. Введение резерпина снижало амплитуду комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя ПЛК у получавших имипрамин крыс на 16,5 %, в то время как у интактного контроля эта величина составляла 32,9 % (рис. 13).

Хроническое введение обладающего церебропротективной активностью диакамфа в дозе 10 мг/кг также ослабляло вызываемые воспалением и резерпином повреждения пирамидных нейронов глубокого слоя ПЛК, которые проявлялись снижением амплитуд синаптических потенциалов. Так на фоне диакамфа воспаление снижало амплитуду комплексных пВПСП пирамидных нейронов V слоя на 14,0 %, а у интактных крыс на 26,7 % (рис. 13). Также хроническое введение диакамфа уменьшало негативное влияние резерпина на релейные свойства синапсов проекционных нейронов ПЛК на 13,0 %.

Хроническое введение крысам имипрамина и диакамфа ослабляло также угнетение экспрессии длительной потенциации (ДП) синаптической передачи, т. е. повреждения пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов V слоя ПЛК, вызываемые воспалением и дефицитом моноаминов в мозге (табл. 8).

Таким образом, поскольку нарушения релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов проекционных нейронов ПРК, вызываемые хроническим воспалением и дефицитом моноаминов в мозге под действием резерпина, ослабляются трициклическим антидепрессантом имипрамином можно думать, что эти функциональные нарушения ПФК имеют прямое отношение к развитию депрессивного фенотипа поведения крыс. С другой стороны, то, что эти функциональные нарушения уменьшаются церебропротектором диакамфом, позволяет думать о нейроатрофической природе этих нарушений

Поверхностные II/III слои ПЛК обрабатывают афферентную информацию поступающую от лимбических структур – прилежащего ядра, миндалин, вентрального гиппокампа и контрлатеральной мПФК – и направляют обработанную информацию в глубокие 5 и 6 слои, т. е. являются ассоциативными нейронами. Аксоны нейронов глубоких слоев мПФК проецируются к лимбическим и среднемозговым структурам и контролируют их активность [116]. Поэтому очевидно, что нарушения функциональной

активности нейронов мПФК может быть причиной развития депрессивных симптомов.

Нарушения пластических свойств синапсов пирамидных нейронов II/III слоев может изменять взаимодействие ПРК и миндалин, в результате чего уменьшается вероятность коррекции негативных эмоциональных состояний. Так, для угасания проявлений условнорефлекторного страха («замирание» животных при действии безусловного стимула) необходима экспрессия ДП в этой зоне коры [125].

Но наиболее серьезная причина развития депрессивного поведения – снижение активности проекционных нейронов 5 слоя мПФК, обусловленное даун-регуляцией AMPA рецепторов. С помощью оптогенетических исследований установлено, что стимуляция пирамидных нейронов 5 слоя мПФК низкой (4 Гц) частотой уменьшает время иммобилизации в плавательном тесте, не увеличивая при этом двигательную активность животных. Хроническая стимуляция (4 Гц, 5 мин, 14 дней) нейронов 5 слоя устраняла поведенческую депрессию, вызванную хроническим субординационным стрессом. Наконец, оптогенетическая стимуляция нейронов 5 слоя мПФК синхронизировала осцилляторную активность в мПФК и ее лимбических проекциях в бета диапазоне [60]. Межструктурную осцилляторную синхронность считают потенциальным механизмом, позволяющим связывать в мозге активность популяций нейронов, распределенных в кортикальных и подкорковых структурах и участвующих в формировании поведенческих реакций. Интересно, развитие терапевтического эффекта антидепрессантов у больных депрессией сопровождается усилением синхронизации лимбических структур в бета диапазоне [173]. Этот эффект обусловлен сенситизацией AMPA рецепторов и повышением функциональной активности проекционных нейронов глубоких слоев мПФК и присущ всем обладающим антидепрессивной активностью лекарствам – традиционным антидепрессантам, селективным и неселективным блокаторам НМДА

рецепторов, позитивным аллостерическим модуляторам AMPA рецепторов и метаботропных глутаматных рецепторов первой группы [175, 202, 145].

При моделировании депрессивного фенотипа поведения у крыс, вызываемого хроническим воспалением мягких тканей спины и действием резерпина, выявлены функциональные повреждения ассоциативных пирамидных нейронов II/III слоев передней поясной коры (ППК), которые проявлялись ростом амплитуд комплексных пВПСП пирамиднх нейронов и их НМДА и AMPA компонентов, а также угнетением экспрессии ДП синаптической передачи.

Наблюдаемое усиление синаптической передачи может быть обусловлено как усилением пресинаптического высвобождения глутамата, так и повышением хемосенситивности постсинаптических глутаматных рецепторов. В исследованиях на крысах с обусловленным хронической нейропатической болью депрессивным синдромом вследствие повреждения седалищного нерва, продемонстрировано как усиление пресинаптического высвобождения глутамата, так и увеличение плотности содержащих GluA1 и GluN2B субъединицы AMPA и НМДА глутаматных рецепторов соответственно в постсинаптических уплотнениях нейронов тех же слоев, той же структуры. Эти изменения обусловлены повышением активности Ca^{2+}-зависимой аденилатциклазы 1 (AC1) и усилением фосфорилирования цАМФ-зависимой протеинкиназой А пре- и постсинаптических субстратов [78]. Не исключено, что выявленные нами изменения синаптической передачи развиваются по такому же сценарию, поскольку еще с античных времен известно, что один из симптомов воспаления – хроническая боль.

Возрастание амплитуд комплексных пВПСП и их AMPA компонентов и недостоверная тенденция к увеличению амплитуд НМДА компонентов пВПСП при действии резерпина может быть связано с заменой агонист-предпочитающих (содержащих GluN2B субъединицу) на антагонист-предпочитаюшие (содержащие GluN2A субъединицу) НМДА глутаматные рецепторы в

постсинаптических уплотнениях нейронов несмотря на увеличение плотности этих рецепторов [2]. Подобные изменения амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов II/III слоев и их АМРА и НМДА компонентов наблюдали при депрессивном синдроме у потомства крыс, которые во время беременности подвергались стрессогенным воздействиям [44]. Усиление пресинаптического высвобождения глутамата в этом случае может быть следствием ослабления пресинаптического тормозного контроля релиза глутамата, опосредуемого серотониновыми 5-НТ 1В и α_2-адренорецепторами из-за дефицита моноаминов [164].

Если эти повреждающие нейроны воздействия воспроизводили на фоне хронического введения амитриптилина, то повреждения нейронов существенным образом уменьшались. Так прирост амплитуд комплексных пВПСП пирамидных нейронов поверхностных слоев ППК уменьшался на 24,1 % при хроническом воспалении, а при действии резерпина более чем на 10 % (рис. 14).

При хроническом введении церебропрротектора соединения R-86 в дозе 10 мг/кг крысам наблюдали качественно сходные влияния на релейные свойства глутаматергических синапсов II/III слоев ППК (рис. 14). Также хроническое введение антидепрессанта амитриптилина и церебропротектора соединения R-86 ослабляло вызываемые воспалением и дефицитом монаминов в мозге повреждения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов II/III слоев ППК, т. е. наблюдали ослабление степени угнетения развития ДП синаптической передачи депрессогенными процедурами (табл. 9).

Угнетение экспрессии ДП в синапсах пирамидных нейронов II/III слоев ППК обусловлено уже существующим повышением эффективности синаптической передачи (патологическая длительная потенциация), вызванной хроническим воспалением или действием резерпина ДП, которая препятствует развитию тетанус-индуцируемой ДП. В соответствии с законами метапластичности вероятность развития ДП в уже потенцированных синапсах

существенно уменьшается, зато возрастает вероятность экспрессии длительной депрессии, что наблюдали в ранее проведенных исследованиях [2, 188].

Следовательно, можно думать, что вызываемые воспалением и действием резерпина повреждения пирамидных нейронов II/III слоев ППК имеют нейроатрофическую природу и приводят к развитию поведенческой депрессии, поскольку ослабляются церебропротектором соединением R-86 и антидепрессантом амитриптилином.

Почему вызываемое хроническим воспалением и дефицитом моноаминов после введения резерпина усиление функциональной активности пирамидных нейронов поверхностных слоев ППК приводит к развитию депрессивного фенотипа поведения? Развивающаяся в условиях экспериментального депрессивного синдрома патологическая синаптическая пластичность поверхностных слоев ростральной ППК, проявляющаяся увеличением амплитуд синаптических ответов, существенно повышает функциональную активность этого образования и делает его нечувствительным к угнетающему влиянию со стороны каудальной ППК. Это обстоятельство делает понятным нарушение деактивации системы самооценки (default mode system) при решении задач, требующих внимания и когнитивного контроля. С другой стороны, установлено, что повышение функциональной активности ростральной ППК, вызванное электрической стимуляцией или активацией глутаматергических синапсов усиливает восприятие боли, аверсивное обучение, формирование условного страха [163], т. е. способствует фиксации негативных сторон внешнего и внутреннего мира. В клинических условиях в ППК у больных депрессией выявлено повышение глутаматергической активности [175].

Возвращаясь к нарушениям релейных свойств глутаматергических синапсов поверхностных и глубоких слоев ППК и ПЛК, следует обратить внимание на один интересный аспект этой проблемы. Известно, что одной из причин повреждения кортикальных нейронов при воздействии хронического стресса является эксайтотоксическое действие глутамата [85]. Указанное

действие глутамата опосредовано активацией НМДА глутаматных рецепторов, содержащих в своей структуре GluN2B субъединицы и имеющих внесинаптическую локализацию. С другой стороны, активация имеющих синаптическую локализацию и содержащих GluN2A субъединицы НМДА глутаматных рецепторов оказывает выраженное протективное действие и обеспечивает выживание нейронов [94]. Наблюдаемое нами усиление синаптических ответов пирамидных нейронов поверхностных слоев ППК и ПЛК, опосредуемых активацией синаптических НМДА глутаматных рецепторов, при моделировании депрессивного фенотипа поведения, может свидетельствовать о включении защитных механизмов, противодействующих повреждающему действию на нейроны как хронического воспаления, так и резерпина. Вероятно, в этих условиях реализуется важная задача – сохранение целостности и функциональной активности популяций нейронов, даже несмотря на нарушения вследствие реализации этих защитных механизмов функциональной активности данной структуры мозга. Эти нарушения функциональной активности ППК и ПЛК проявляются угнетением экспрессии ДП синаптической передачи (табл. 7). В тоже время, потенциальные возможности этого механизма в пирамидных нейронах глубоких слоев ППК и ПЛК ограничены и поэтому в тех же условиях имеет место повреждение нейронов, проявляющееся угнетением синаптических ответов и синаптической пластичности (рис. 10, 11).

Ранее было высказано предположение, что поскольку церебропротекторы диакамф и соединение R-86 уменьшают повреждения функциональной активности пирамидных нейронов центральной структуры лимбической системы медиальной ПФК, вызываемые депрессогенными процедурами, то они могут ослабить основные проявления поведенческой депрессии.

В последующих разделах мы использовали две модели поведенческой депрессии – вызываемую хроническим плавательным стрессом (стрессогенную) и вызываемую хроническим воспалением мягких тканей спины (цитокиновую).

На этих моделях депрессии мы исследовали влияния используемых церебропротекторов, референтных препаратов и антидепрессантов на основные проявления поведенческой депрессии – время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания и показатель предпочтения потребления сладкого раствора по сравнению с водой.

В условиях вызываемой хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии введение диакамфа в течение 10 дней не оказывало влияния на время иммобилизации крыс в тесте Порсолта и показатель предпочтения потребления сладкого раствора (табл. 12). Введение имипрамина в дозе 20 мг/кг на протяжении того же времени достоверно изменяло исследуемые показатели поведения (табл. 11), т. е. к этому времени уже формировалось антидепрессивное действие имипрамина. Однако через 20 дней систематического введения и диакамф достоверно снижал показатели нарушения мотивации избавления и проявления ангедонии (табл. 12).

При хроническом введении крысам другой церебропротектор соединение R-86 уменьшало проявления поведенческой депрессии, вызванной хроническим плавательным стрессом. Действительно, после 10 дней введения препарата время иммобилизации крыс уменьшалось до 91,7 ± 5,5 с, а после 20 дней введения препарата этот показатель уменьшался до 50,6 ± 3,3 с (табл. 14). Параллельно с угнетением мотивации избавления у крыс при пятидневном воздействии плавательного стресса наблюдали снижение предпочтения потребления сладкого раствора по сравнению с водой, что указывает на нарушение в системе вознаграждения в виде ангедонии. Влияние соединения R-86 на ангедонию на фоне вызываемой плавательным стрессом поведенческой депрессии было менее выраженным по сравнению с влиянием на мотивационные нарушения. После 10 дней введения препарата показатель предпочтения потребления сладкого раствора обнаруживал недостоверную тенденцию к возрастанию, а после 20 дней введения препарата показатель предпочтения возрастал до 76,7 ± 2,9 % (табл. 14). Эти данные указывают на то,

что церебропротектор соединение R-86 слабее коррегирует ангедонические нарушения поведения крыс по сравнению с мотивационными.

Референтный позитивный церебропротектор пирацетам в условиях хронического введения в дозе 100 мг/кг после 10 и 20 дней отчетливо демонстрировал антидепрессивное действие, уменьшая время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания и одновременно увеличивая показатель предпочтения потребления раствора сахарозы (табл. 16). Однако негативный референтный препарат дексаметазон, который усиливал вызываемые повреждающими воздействиями нарушения функциональной активности пирамидных нейронов гиппокампа (табл. 6), утяжелял проявления вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии. Действительно, на фоне предварительного введения дексаметазона время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания достоверно возрастало, а показатель предпочтения потребления сладкого раствора, напротив, снижался по сравнению с этими же показателями у получавших только растворитель крыс (табл. 17).

Наконец, используемые классические и быстродействующий антидепрессанты – имипрамин, амитриптилин и кетамин – отчетливо ослабляли проявления поведенческой депрессии, вызванной хроническим плавательным стрессом (табл. 11).

Поскольку исследуемые вещества обладают различающимися спектрами церебропротективной активности на уровне нейронов и разными проявлениями антидепрессивной и антидепрессивной активности, несомненный интерес представляет выяснение связи между проявлениями церебропротективной активности и антидепрессивным действием на уровне поведения.

Таблица 31 - Относительная активность применяемых в работе препаратов по их влиянию на исследуемые нейрохимические и поведенческие параметры при вызванной хроническим не избегаемым плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Препараты	Степень ослабления в % иследуемыми веществами негативного влияния на пирамидные нейроны гиппокампа и поведение крыс				
	Глутаматной эксайтоток-сичности	Оксидатив-ного стресса	Аноксии/ агликемии	Вызываемого стрессом угнетения мотиваций	Вызываемой стрессом ангедонии
Диакамф	0	100,4 ± 21,1	109,5 ± 24,6	0* 56,7 ± 12,5*	0 29.6 ± 13,1
Соединение R-86	40,3 ± 9,1	87,6 ± 13,3	139,2 ± 16,3	24,6 ± 12,4 65,4 ± 16,2	17,4 ± 5,2 24,5 ± 13,3
Пирацетам	16,6 ± 7,3	100,8 ± 18,4	114,7 ± 15,5	56,5 ± 15,4 101,4 ± 21,1	31,6 ± 12,1 29,7 ± 10,2
Кетамин	15,4 ± 8,2	32,5 ± 16,7	135,3 ± 17,6	43,8 ± 12,2	22,8 ± 11.5
Имипрамин	133,5 ± 18,6#	311,4 ± 28,4#	76,2 ± 13,5#	129,4 ± 21,5 186,5 ± 25,3	40,5 ± 13,3 31,4 ± 12,1
Амитрип-тилин	122,4 ± 19,3#	283,7 ± 25,2#	70,6 ± 14,5#	103,7 ± 19,5 168,7 ± 22,4	38,7 ± 11,6 41,5 ± 13,3

Показатель = 0 – отсутствие влияния; показатель > 10 указывает на сколько % уменьшилось негативное влияние используемой процедуры; * - верхние цифры соответствуют изменениям параметра после 10 дней введения, нижние – после 20 дней введения; # - эти результаты получены в нашей лаборатории другими исследователями [1, 4].

В таблице 31 суммированы данные, касающиеся церебропротективной активности исследуемых веществ и их антидепрессивной и антидепрессивной активности. Однако анализировать вероятные связи между представленными в таблице данными из-за их обилия затруднительно. Более доступными для анализа будут рассчитанные коэффициенты корреляций между проявлениями активности исследуемых веществ на уровне нейронов и на уровне поведения. Коэффициенты корреляции рангов по Спирмену представлены в таблице 32.

Таблица 32 - Матрица коэффициетов корреляции рангов по Спирмену между церебропротективной и поведенческой активностью исследуемых веществ при вызванной не избегаемым плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Проявления поведенческой активности	Проявления церебропротективной активности		
	Ослабление эксайтотоксичности	Ослабление оксидативного стресса	Ослабление аноксических повреждений
Уменьшение времени иммобилизации	0,943*	0,943*	- 0,657
Увеличение показателя предпочтения раствора сахарозы	0,643	0,943*	- 0,820

Для данной выборки достоверный на уровне 0,05 коэффициент корреляции равен 0,850, где * - это достоверный коэффициент.

Анализ корреляций показывает, что существует наиболее тесная связь между способностью исследуемых веществ уменьшать повреждения нейронов, вызванные оксидативным стрессом, и ослаблением основных проявлений депрессивного фенотипа поведения, вызванного плавательным стрессом. Менее тесная связь между способностью исследуемых веществ противодействовать эксайтотоксическим повреждениям нейронов и поведенческой активностью, на что указывает находящийся на грани достоверности коэффициент корреляции. Наконец, очевидно, что антианоксическое действие исследуемых веществ не играет существенной роли в антидепрессивном и антидепрессивном действии исследуемых веществ (табл. 32).

По поводу антидепрессивного действия диакамфа можно высказать следующие соображения. У препарата отсутствует антиэксайтотоксическая активность, но есть почти одинаковое антиоксидантное и антианоксическое действие. После 10 дней введения препарат не влиял на параметры поведения крыс с поведенческой депрессией и антидепрессивное действие появлялось после 20 дней его введения. Это действие может быть связано с присущей

препарату антиоксидантной активностью (табл. 31). За счет уменьшения продукции, либо нейтрализации активных радикалов диакамф ослабляет их повреждающее действие на нейроны лимбических структур мозга и или препятствует, либо обращает вызываемые плавательным стрессом морфофункциональные повреждения нейронов. То, что антидепрессивное действие диакамфа развивается медленно, может косвенно указывать, что препарат не взаимодействует непосредственно со свободными радикалами, а усиливает наиболее вероятно ферментную составляющую системы антиоксидантной защиты. Помимо этого, антидепрессивное действие диакамфа может быть связано со способностью препарата повышать уровень дофамина в мозге и оптимизировать обмен катехоламинов [28]. Однако представляется маловероятным прямое воздействие диакамфа на ДАергическую систему мозга. Вероятно, изменения обмена дофамина могут быть следствием улучшения функционального состояния дофаминергических нейронов.

По сравнению с диакамфом соединения R-86 обладает антиэксайтотоксическим действием и менее выраженным антиоксидативным действием. Именно сочетание этих двух проявлений церебропротективной активности обеспечивает более быстрое развитие антидепрессивного действия препарата. С такой же скоростью развивается антидепрессивное действие позитивного референтного препарата пирацетама, который обладает меньшим по сравнению с R-86 антиэксайтотоксическим действием, но более выраженной антиоксидантной активностью (табл. 31). Сочетание этих двух видов активности обязательно для классических и быстродействующих антидепрессантов (табл. 31). Что касается антианоксической активности исследуемых веществ с церебропротективной активностью, то она в их антидепрессивном действии существенной роли не играет; она становится ведущей при ишемических повреждениях головного мозга.

Как следует из обзора литературы, оксидативный стресс является общим патогенетическим механизмом, вовлеченным в развитие многих психических

заболеваний, в том числе разных форм депрессии, генерализованных тревожных расстройств, шизофрении и других [168]. Усиление процессов перекисного окисления липидов зачастую связано с повреждение митохондрий, которое приводит к усилению образования активных форм кислорода, изменяющих структуру и функции мозга при старении и вызывающих ряд нейродегенеративных расстройств [134, 170, 183]. Установлено, что у больных разными формами депрессии в плазме крови повышен уровень оксидантов, но снижены уровни антиоксидантов и лечение разными группами антидепрессантов наряду с ослаблением симптоматики заболевания обращало эти нарушения [104, 178, 212]. Именно присущая диакамфу и соединению R-86 способность ослаблять вызываемые оксидативным стрессом повреждения нейронов и определяет их антидепрессивное действие (табл. 31 и 32).

Повышение внеклеточного уровня глутамата вызывает гибель нейронов. Этот явление наблюдается при ряде психических заболеваний. Эксайтотоксичность обусловлена активацией преимущественно НМДА глутаматных рецепторов, имеющих внесинаптическую локализацию и нарушением кальциевого гомеостаза в нейронах [130, 148, 150]. Воздействие хронического стресса снижает активность нейрональных и глиальных транспортеров глутамата EAAC1-3 и это приводит к росту внеклеточных уровней глутамата и развитию эксайтотоксических повреждений нейронов [57, 73, 105]. В этой связи более выраженное антидепрессивное действие соединения R-86, который обладает антиэксайтотоксическим действие, по сравнению с лишенным этой активности диакамфом (табл. 31 и 32) указывает на важность глутаматнегативного компонента действия для развития антидепрессивного действия.

Одним из способов преодоления резистентности депрессии к фармакотерапии является усиление действия разных групп традиционных антидепрессантов лекарственными веществами, которые не являются антидепрессантами. Эмпирически были подобраны комбинации

антидепрессантов с препаратами лития, некоторыми противоэпилептичесими средствами, атипичными антипсихотиками [11]. Существенно, что, по крайней мере, препараты лития и антиконвульсанты, как отмечалось в обзоре литературы, обладают выраженным церебропротективным действием. На основании этого мы решили проанализировать возможное взаимодействие диакамфа и соединения R-86 - веществ с выраженным церебропротективным действием - с классическими антидепрессантами имипрамином и амитриптилином, а также с кетамином.

Совместное введение ¼ дозы имипрамина и ½ дозы диакамфа (по 5 мг/кг) после 10 дней не оказывало влияния на поведение крыс, однако после 20 дней введения комбинации достоверно ослаблялись проявления поведенческой депрессии, вызванной плавательным стрессом (табл. 18). Количественная оценка взаимодействия диакамфа и имипрамина в дозах по 5 мг/кг указывает на то, что происходит простое сложение эффектов двух веществ. Таким образом, в условиях вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии диакамф при хроническом совместном введении имипрамином демонстрирует аддитивный синергизм с антидепрессантом.

После 20 дней хронического введения другой антидепрессант амитриптилин по сравнению с соединением R-86 оказывал более существенное влияние на исследуемые показатели вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии у крыс. Хроническое введение амитриптилина в дозе 5 мг/кг (¼ от предыдущей дозы) в условиях вызванной хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии не вызывало достоверных изменений исследуемых параметров поведения. Однако при совместном введении дробных, суммарно меньших по сравнению с полными, доз амитриптилина и соединения R-86 в условиях стресс-индуцируемой поведенческой депрессии наблюдали большие (время иммобилизации) или такие же (ангедония) эффекты, по сравнению с полной дозой амитриптилина (табл. 19). А это указывает на потенцированный синергизм. Подобным образом

позитивный референтный препарат пирацетам при хроническом совместном введении с имипрамином потенцировал его антидепрессивное действие при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии (табл. 20). Наконец, диакамф и пирацетам в условиях хронического введения усиливали антидепрессивное действие одноразово вводимого в дозе 5 мг/кг кетамина (табл. 21).

Таким образом, исследуемые церебропротекторы диакамф и соединение R-86 обладают не только антидепрессивным действием при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии, но и усиливают антидепрессивное действие традиционных антидепрессантов имипрамина и амитриптилина, а также и быстродействующего антидепрессанта кетамина.

Поскольку у каждого больного депрессией имеется индивидуальный набор синдромов и субсиндромов данной болезни и, в связи с этим, разная чувствительность к действию антидепрессантов, мы не ограничились одной экспериментальной моделью этого заболевания. Параллельно исследовали влияние диакамфа и соединения R-86 на развитие поведенческой депрессии, вызванной хроническим воспалением мягких тканей спины у крыс. Выбор этой модели обусловлен тем, что в соответствии с данными литературы между депрессией и воспалением имеются довольно тесные связи [42, 64].

Введение диакамфа в дозе 10 мг/кг на протяжении 10 дней после введения флогогена, приводило к уменьшению времени иммобилизации животных до 88,6 ± 4,1 с (табл. 24) против 123,2 ± 8,6 с у контрольных крыс. Дальнейшее введение диакамфа на протяжении следующей десятидневки еще в большей степени уменьшало уровень депрессивности крыс. Влияние хронически вводимого диакамфа на ангедонию было слабее по сравнению с его влиянием на нарушения мотивации избавления от угрожающей ситуации у крыс в условиях хронического воспаления. Так на 10-й день введения препарата показатель предпочтения потребления раствора сахарозы достоверных изменений не

претерпевал, однако после 20 дней введения диакамф уменьшал выраженность ангедонии (табл. 24).

Введение крысам соединения R-86 в дозе 10 мг/кг после 10 дней снижало показатель мотивационных нарушений у животных до 71,6 ± 6,0 с против 123,2 ± 8,6 с, а после 20 дней введения еще в большей степени (табл. 25). Хроническое введение соединения R-86 крысам в дозе 10 мг/кг после 10 и 20 дней увеличивало показатель предпочтения потребления до 72,7 ± 3,1 % и 78,9 ± 3,4 % (табл. 25), т. е. ослабляло проявления ангедонии.

Подобно соединению R-86 позитивный препарат сравнения пирацетам в условиях хронического введения в дозе 100 мг/кг оказывал оптимизирующее влияние на мотивационную и гедоническую составляющие поведения крыс, уменьшая время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания и увеличивая показатель предпочтения потребления сладкого раствора соответственно (табл. 26).

Установлено также, что, все исследуемые антидепрессанты – имипрамин, амитриптилин и кетамин, обладающие разными функциональными особенностями, обращали вызываемое хроническим воспалением нарушения поведения у крыс (табл. 23). Это позволяет сделать заключение, что наблюдаемые изменения поведения крыс являются проявлением депрессивного фенотипа поведения.

Таким образом, результаты этого раздела исследования однозначно указывают на то, что обладающие церебропротективной активностью диакамф и соединение R-86, а также позитивный референтный препарат пирацетам в условиях хронического введения ослабляют проявления поведенческой депрессии, вызванной хроническим воспалением, т. е. проявляет антидепрессивное действие. Тем не менее, остается не ясным существуют ли связи между проявлениями церебропротективной активности и антидепрессивным действием на уровне поведения для исследуемых веществ при данной форме поведенческой депрессии.

Анализ данных, представленных в таблицах 33 и 34, показывает, что в общих чертах характер связей между церебропротективной активностью и антидепрессивным действием исследуемых веществ при вызванной хроническим воспалением поведенчской депрессии совпадает с таковым при стресс-индуцируемой поведенческой депрессии.

Таблица 33 - Относительная активность применяемых препаратов по их влиянию на исследуемые нейрохимические и поведенческие параметры при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии.

Препараты	Степень ослабления в % иследуемыми веществами негативного влияния на пирамидные нейроны гиппокампа и поведение крыс				
	Глутаматной эксайтотоксичности	Оксидативного стресса	Аноксических повреждений	Вызываемого воспалением угнетения мотиваций	Вызываемой воспалением ангедонии
Диакамф	0	100,4 ± 21,1	109,5 ± 24,6	39,4 ± 15,2* 143,6 ± 25,1*	0 31,6 ± 14,3
Соединение R-86	40,3 ± 9,1	87,6 ± 13,3	139,2 ± 16,3	72,4 ± 17,2 112,5± 20,2	41,4 ± 15,1 28,8 ± 13,6
Пирацетам	16,6 ± 7,3	100,8 ± 18,4	114,7 ± 15,5	94,4 ± 17,3 173,5 ± 26,4	29,4 ± 11,2 34,6 ± 13,3
Кетамин	15,4 ± 8,2	32,5 ± 16,7	135,3 ± 17,6	93,6 ± 17,4	25,5 ± 12,1
Имипрамин	133,5 ± 18,6#	311,4 ± 28,4#	76,2 ± 13,5#	303,4 ± 35,6 370,3 ± 43,5	45,7 ± 14,3 37,8 ± 12,4
Амитриптилин	122,4 ± 19,3#	283,7 ± 25,2#	70,6 ± 14,5#	266,7 ± 29,9 285,6 ± 32,3	36,6 ± 12,3 38,7 ± 13,5

Показатель = 0 – отсутствие влияния; показатель > 10 указывает на сколько % уменьшилось негативное влияние используемой процедуры; * - верхние цифры соответствуют изменениям параметра после 10 дней введения, нижние – после 20 дней введения; # - эти результаты получены в нашей лаборатории другими исследователями [1, 4].

Так на фоне хронического воспаления способность исследуемых веществ уменьшать мотивационные нарушения (время иммобилизации) определяется их антиэксайтотоксическим действием и в меньшей степени ослаблением оксидативного стресса (табл. 34). Вызываемое исследуемыми веществами

ослабление нарушений в системе вознаграждения (показатель предпочтения потребления сладкого раствора) обусловлено только их антиоксидантным действием (табл. 34). Ослабление проявлений вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии исследуемыми веществами не связано с их антианоксическим действием (табл. 34).

Таблица 34 - Матрица коэффициентов корреляции рангов по Спирмену между церебропротективной и поведенческой активностью исследуемых веществ при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии.

Проявления поведенческой активности	Проявления церебропротективной активности		
	Ослабление эксайтотоксичности	Ослабление оксидативного стресса	Ослабление аноксических повреждений
Уменьшение времени иммобилизации	0,829	0,943*	-0,714
Увеличение показателя предпочтения раствора сахарозы	0,714	0,900*	-0,620

Для данной выборки достоверный на уровне 0,05 коэффициент корреляции равен 0,850, где * - это достоверный коэффициент.

Провоспалительные интерлейкины и фактор некроза опухолей, уровни которых существенно повышаются в плазме крови и мозге при воспалении, изменяют обмен глутамата. Системное введение липополисахарида, усиливающего образование провоспалительных цитокинов, или внутрижелудочковое введение ИЛ-1 существенно повышали внеклеточный уровень глутамата и продукцию гидроксильных радикалов в сосудистом органе конечной полоски [102]. Внеклеточный уровень глутамата также повышается ФНО путем усиления его высвобождения из микроглии и астроцитов. В микроглии цитокин усиливает экспрессию глутаминазы, которая трансформирует глутамин в глутамат. В астроцитах эффект ФНО сопровождается активацией индуцибельной циклоксигеназы-2, образованием

простагландина Е2 и мобилизацией Ca2+ из внутриклеточных хранилищ [102]. Все это приводит к росту внеклеточной концентрации глутамата и эксайтотоксическим процессам.

Помимо цитокинов и других продуктов воспаления в развитие депрессии также вовлечен фермент индол-2,3-диоксигеназа (ИДО), который шунтирует путь превращения триптофана в серотонин, способствуя конвертации триптофана в кинуренин, который обладает выраженным продепрессивным действием [64, 156]. Это действие кинуренина обусловлено тем, что один из его метаболитов хинолиновая кислота является высокоактивным эндогенным агонистом НМДА глутаматных рецепторов и ее накопление в мозге приводит к генерации свободных радикалов (O_2^- и NOO^-) и эксайтотоксическим и оксидативным повреждениям нейронов и глии [200, 212].

Таким образом, с одной стороны, наблюдаемый при хроническом воспалении мягких тканей спины у крыс депрессивный фенотип поведения обусловлен накоплением во внеклеточных пространствах мозга глутамата и глутаматмиметиков, а также свободных радикалов, повреждающих нейроны лимбической системы мозга. С другой стороны, исследуемые препараты диакамф и соединение R-86, обладая антиоксидативной и антиэксайтотоксической активностями, уменьшают повреждения нейронов лимбической системы и ослабляют проявления поведенческой депрессии.

Обладающие антидепрессивным действием диакамф и соединение R-86 усиливали антидепрессивное действие имипрамина, амитриптилина и кетамина при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии у крыс. Действительно, хроническое введение имипрамина в дозе 20 мг/кг оказывало типичное антидепрессивное действие при вызванной хроническим воспалением мягких тканей спины у крыс. Однако введение в тех же условиях имипрамина в дробной дозе 5 мг/кг на исследуемые показатели поведения крыс достоверного влияния не оказывало (табл. 27). Количественная оценка совместного введения ¼ дозы имипрамина и ½ дозы диакамфа на протяжении 20 дней указывает на то,

что совместное влияние имипрамина и диакамфа на мотивационные нарушения у крыс при хроническом воспалении реализуется на уровне аддитивного синергизма, в то время как диакамф потенцирует влияние имипрамина на гедонический компонент поведения крыс (табл. 27). Подобно при совместном введении ¼ от эффективной дозы амитриптилина и ½ дозы соединения R-86 наблюдали уменьшение времени иммобилизации крыс, но возрастание показателя предпочтения потребления раствора сахарозы в такой степени как от полной (1) дозы амитриптлина (табл. 28). Позитивный препарат сравнения пирацетам подобно диакамфу и соединению R-86 потенцировал антидепрессивное действие имипрамина при вызванной хроническим воспалением поведенческой депрессии (табл. 29). На фоне хронического десятидневного введения соединения R-86 и референтного препарата пирацетама наблюдали усиление антидепрессивного действия кетамина при его однократном введении (табл. 30).

Природа потенцирующего влияния диакамфа и соединения R-86 на эффекты трициклических антидепрессантов при используемых формах поведенческой депрессии не ясна. Потенцирование диакамфом действия имипрамина может быть следствием различного влияния на оксидативный стресс, вызываемый плавательным стрессом и хроническим воспалением, который является общим звеном их антидепрессивного действия. Можно представить, что, к примеру, имипрамин способен нейтрализовать свободные радикалы, а диакамф усиливает активность ферментативной или неферментативной составляющей системы антиоксидантной защиты. В этом случае в соответствии с законами общей фармакологии [27] при несовпадении механизмов действия веществ при их совместном применении может реализоваться потенцированный синергизм.

Потенцирование эффектов амитриптилина соединением R-86 может связано с их влиянием на нейрональные НМДА глутаматные рецепторы. Действительно, соединение R-86 демонстрирует уменьшение амплитуд НМДА

компонентов комплексных пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа, что может быть следствием конкурентной или неконкурентной блокады НМДА глутаматных рецепторов. Антидепрессанты, в том числе и амитриптилин, при хроническом введении угнетают биосинтез мРНК субъединиц данной популяции рецепторов, что приводит к снижению их плотности в постсинаптических мембранах и уменьшению их функциональной активности [186]. Следовательно, воздействие исследуемых веществ на разные аспекты функциональной активности нейрональных НМДА глутаматных рецепторов может быть основой потенцирующего действия.

Таким образом, используемые в данном исследовании церебропротекторы диакамф и соединение R-86 обладают двумя представляющими практический интерес важными свойствами. Во-первых, они ослабляют проявления поведенческой депрессии у крыс, вызываемой хроническим воспалением и плавательным стрессом, т. е. обладают антидепрессивным действием. Во-вторых, они усиливают антидепрессивное действие используемых в психиатрической практике имипрамина, амитриптилина и кетамина.

Что касается первого их свойства. Очевидно, что самостоятельно использовать лекарства, созданные на основе этих препаратов, для лечения депрессии представляется маловероятным, поскольку и по скорости развития и по интенсивности антидепрессивного действия они уступают традиционным антидепрессантам. Но присущая им антиэксайтотоксическая и антиоксидантная активность позволяет ослаблять или обращать те нейроатрофические процессы в нейронах лимбических структур мозга, которые приводят к развитию депрессии. В этой связи представляется возможным использовать эти препараты во время ремиссии для удлинения ее продолжительности.

Помимо этого, лекарства, созданные на основе этих препаратов, могут быть использованы в период обострения заболевания, поскольку они подобно препаратам лития, некоторым антиконвульсантам и атипичным антипсихотикам

способны потенцировать антидепрессивное действие используемых антидепрессантов.

7.1 Выводы

1. При хроническом введении крысам диакамф, соединение R-86 и препарат сравнения пирацетам обладают церебропротективной активностью, которая проявляется ослаблением повреждения пирамидных нейронов гиппокампа эксайтотоксическим действием в 1,15-1,40 раза, оксидативным стрессом в 1,87-3,00 раза и процедурой аноксии/агликемии в 2,14-3,09 раза. Негативный референтный препарат дексаметазон усиливал повреждения нейронов используемыми воздействиями.

2. Диакамфом, соединением R-86, амитриптилином и имипрамином, хронически вводимыми, существенно ослаблялись нарушения функциональной активности выявленных изменений пирамидных нейронов II/III и V слоев прелимбической и передней поясной коры – разнонаправленные изменения релейных и угнетение пластических свойств их синапсов при поведенческой депрессии, вызванной хроническим воспалением и введением резерпина.

3. При хроническом введении диакамф и соединение R-86 демонстрировали антидепрессивное действие, которое было слабее по сравнению с действием антидепрессантов. Так, после 20 дней введения диакамф в 2,56 раза, соединение R-86 в 1,65 раза, а имипрамин и амитриптилин в 2,86 и 2,68 раза ослабляли нарушения мотивации избавления, вызываемые стрессом; эти же нарушения, вызываемые воспалением уменьшались диакамфом в 2,43 раза, соединением R-86 в 2,12 раза, имипрамином и амитриптилином в 4,70 и

3,85 раз. Все исследуемые вещества почти в одинаковой степени ~ в 1,3 раза уменьшали ангедонию при обеих формах поведенческой депрессии.

4. При совместном использовании дробных доз церебропротекторов и антидепрессантов наблюдали разные проявления синергизма. Так при хроническом введении диакамфа и имипрамина наблюдали аддитивный синергизм, кроме их влияния на ангедонию, вызываемую хроническим воспалением. Но диакамф усиливал антидепрессивное действие кетамина.

5. Соединение R-86 и препарат сравнения пирацетам потенцировали антидепрессивное действие имипрамина, амитриптилина и кетамина при обеих формах поведенческой депрессии у крыс.

6. Для диакафа, соединения R-86 и других используемых препаратов выявлена достоверная функциональная связь (коэффициенты корреляции рангов 0,829-0,943) между такими проявлениями церебропротективной активности, как антиэксайтотоксическое и антиоксидантное действие и их антидепрессивной активностью. Антианоксическое действие церебропротекторов не играет существенной роли в их антидепрессивном действии.

7.2 Научно-практические рекомендации

1. Созданный на основе диакамфа лекарственный препарат может быть рекомендован для систематического введения пациентам в период между обострениями депрессии для пролонгирования ремиссии, поскольку эти вещества предотвращают морфофункциональные нарушения нейронов и усиливают репаративные процессы в поврежденных болезнью нейронных сетях.

2. Разработанное на основе соединения R-86 лекарство и референтный препарат пирацетам, могут быть использованы совместно с антидепрессантами для лечения больных в период обострения депрессии для усиления действия традиционных антидепрессантов при лечении чувствительных и резистентных к фармакотерапии формах заболевания.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АС — аденилатциклаза

АсРв — белок тарнсдукции

ACC — передняя поясная кора

BDNF -нейротропный фактор мозга; англ. brain-derived neurotrophic factor

CC - система самооценки

CA1 – отдел гиппокампа (Cornu Ammonu)

CA3 – отдел гиппокампа (Cornu Ammonu)

CREB – транскрипционный фактор

CRF – кортикотропин-высвобождающий гормон

D – дофаминовый рецептор

DNQX – блокатора AMPA рецепторов 6,7-динитрохиноксалин-2,3-диона

EAAC1 — белок транспортер глутамата

ERK – протеинкиназа регулируемая внеклеточными сигналами

FOSB – транскрипционный факторами

Fr2 – фронтальная область

GLAST – глиальный глутаматный траспортер

GLT1 – глиальный глутаматный траспортер

IL-R – цитокиновый рецептор

MARK – митоген-активирующая протеинкиназа

кВ – ядерный фактор транскрипции

mTORC1 – протеинкиназа, чувствительная к антибиотику рапамицину

n. Accumbens – nucleus Accumben, прилегающее ядро перегородки

NBI27914 – блокатор рецепторофф CRF

NR1 – субъединица NMDA глутаматного рецептора

PL – прелимбиеская область

SK каналов – кальций активируемые калиевые каналы

SRF – сывороточный фактор

TLR – семейство рецепторов (toll-like receptors), в мембранах макрофагов, нейтрофилов и дендритных клеток

АКТ – серин/треониновая протеинкиназа

AMPA – альфа-амино-3-метил-5-изоксазолпропионовая кислота

АТФ — аденозинтрифосфат

АФК – активная форма кислорода

АЦП – аналого-цифровой преобразователь

БЦЖ – ослабленные микобактерии туберкулеза

в/б – внутрибрюшинное введение

вмПФК – вентро-медиальная префронтальная кора

ВПСП – возбуждающий постсинаптический потенциал

ВПСТ — возбуждающие постсинаптические токи

ВТО – вентральная тегментальная область

ГАМК — гамма-аминомаслянная кислота

ГлуА1, ГлуА2 – субъединица глутаматного рецептора

ГП – глутатион пироксидаза

5-ГТ — серотонин

ГТФ – гуанилат трифосфат,

ДА – дофамин

ДАР – дофаминовые рецепторы

ДГ – дорсальный гиппокамп,

дмПФК – дорсальная префронтальная кора

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДП - длительная потенциация синаптической передачи,

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИДО – индол-2,3-диоксигеназа

ИЛ – интерлейкины,

ИЛК – инфралимбическая кора

КРФ – кортикотропин высвобождающий фактор

мВ – милливольт,

мкМ – микромоль,

мМ – миллимоль,

МОм — мегаом

мВПСТ – миниатюрный возбуждающий постсинаптический потенциал

мПФК – медиальная префронтальная кора,

мРНК — матричная рибонуклеиновая кислота,

НАДФН — никотинамидадениндинуклеотидфосфат

НМДА — N-метил-D-аспарагиновая кислота

пВПСП – популяционный возбуждающий постсинаптический потенциал,

п/з – потенциалозависимый

ПКА – протеинкиназа А

ПЛК – прелимбическая кора

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ППК – передняя поясная кора

пС — популяционный спайк

ПТП – плавательный тест Порсолта

ПФК – префронтальная кора

Са КМ II – калльциймодулинзависимая протеинкиназа

с – секунда

СОД – супероксид дисмутаза

СШН – среднешипиковые нейроны

ТПСТ — тормозный постсинаптический ток

ТркВ – тропомиозиновая тирозинкиназа

ФНО — фактор некроза опухоли

цАМФ — циклический аденозин монофосфат

ЦНС – центральная нервная система

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамец И. И., Евдокимов Д. В., Талалаенко А. Н. Влияние хронического введения антидепрессантов на повреждение нейронов гиппокампа и коры крысы, вызываемое действием НМДА // Нейрофизиология. – 2010. – Т. 42, № 1. – С. 20-27.

2. Абрамец И. И., Евдокимов Д. В., Талалаенко А. Н. Изменения пластических свойств и метапластичности глутаматергических синапсов в коре и гиппокампе крыс при резерпиновой поведенческой депрессии // Нейрофизиология. – 2007. – Т. 39(3). – Р. 214-221.

3. Абрамец И. И., Евдокимов Д. В., Талалаенко А. Н. Нейропротективные свойства серотонинергической модулирующей системы мозга // Нейронауки: теор. И клин. аспекты.- 2010.- Т. 6, № 1.- С. 20-27.

4. Абрамец И. И., Евдокимов Д. В., Талалаенко А. Н. Ранние аноксические повреждения гиппокампа и их изменения, обусловленные хроническим действием антидепрессантов // Нейрофизиология. – 2011. – Т. 43, № 2. – С. 122-132.

5. Багаури О. В., Редькин Р. Г., Ходаковский А. А. Скрининг антигипоксической активности в ряду новых производных 3,2’-спиро-пирроло-2-оксиндола // Вестник фармации. – 2013. – Т. 2. – С. 63-65.

6. Багаури О. В., Ходаковский А. А., Черешнюк И. Л. Модулирующее действие производного 3,2’-спиро-пирроло-2-оксиндола (соединение R-86) на формирование стероидной эксайтотоксичности и течение нейроапоптоза в условиях острой церебральной ишемиии // Фармаком. – 2012. – Т. 4. – С. 81-83.

7. Быков Ю. В., Беккер Р. А., Резников М. К. Депрессии и резистентность: практическое руководство для врачей // М.: риор: инфра-м. – 2013. – 374 с.

8. Вознесенская Т. Г. Депрессия в неврологической практике и ее лечение // Медицинский журнал. – 2006. – Т. 11, № 6. – С. 4-11.

9. Востриков В. В., Место пирацетама в современной практической медицине // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 115, № 1. – Р. 14-25.

10. Гарибова Г. А., Крайнева В. А., Воронина Т. А. Поведенческие экспериментальные модели депрессии // Фармакокинетика и фармакодинамика.- 2017.- №3.- Р. 14 – 19.

11. Дамулин И. В., Суворова И. А. Современная концепция повышения эффективности терапии антидепрессантами // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 115(3). – С. 106-112.

12. Иллариошкин С. Н., Клюшников С. А., Брылев Л. В. и др. Превентивная нейропротекция при нейродегенеративных заболеваниях: использование антагонистов глутаматных рецепторов // Неврол. журнал. – 2006. – № 5. – С. 47-53.

13. Лях Ю. Е. Математическое моделирование при решении задач классификации в биомедицине // Український журнал телемедицини та медичної телематики. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 69-76.

14. Митюшев, М. И. Переживающий срез мозга как объект нейрофизиологического и нейрохимического исследования / М. И. Митюшев. – Ленинград: Наука, 1986. – 127 с.

15. Петри А. Наглядная статистика в медицине / А. Петри; пер. с англ. В. П. Леонова. – Москва: ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 144 с.

16. Попова О. А., Кудрин В. С., Клодт П. М., Наркевич В. Б., [и др.]. Влияние мексидола на нейрохимические изменения в структурах мозга крыс при моделировании паркинсонического синдрома // Вестник РГМУ. – 2008 – №1 (60). – С. 54-58.

17. Рославцева В. В., Салмина А. Б., Прокопенко С. В. Возможности применения нейротрофического фактора головного мозга в качестве маркера

терапии при дегенеративных, травматических и ишемических повреждениях головного мозга // Медицинский журнал. – 2015. – Т. 20, № 2. – С. 38-46.

18. Смулевич А. Б. Депрессии в общей медицине: руководство для врачей / А. Б. Смулевич. - М. : Медицинское информационное агентство, 2017. — 256 с.

19. Спасов А.А., Федорчук В. Ю., Гурова Н. А. и др. Методологический подход для изучения нейропротекторной активности в эксперименте // Ведомости НЦЭСМП. – 2014. – №4. – С.39–45.

20. Спасов, А. А., Черников М. В., Яковлев Д. С. и др. Антисеротониновая активность производных трициклических бензимидазольных систем // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40 (11). – С. 23-26

21. Титова Н. В. Современный взгляд на ноотропную терапию // Русский медицинский журнал. – 2007. – Т. 15, № 24. – С. 1846-1850.

22. Тринус, Ф. П., Мохорт Н.А., Клебанов Б.М. Нестероидные противовоспалительные средства / Ф. П. Тринус. – Киев : Здоровья, 1975. – 240с.

23. Тюренков И. Н., Багметова В. В. и др. Депрессивное состояние у крыс при хроническом комбинированном стрессе, вызванном сочетанием разномодальных стрессоров // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99(9). – С. 1045–1056.

24. Тюренков И. Н., Багметова В. В., Бородкина Л. Е. и др. Сравнение психотропных свойств глутаминовой кислоты и ее нового производного – гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты (глутарона) // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3. – С. 167–172.

25. Тюренков И. Н., Багметова В. В., Бородкина Л. Е. и др. Фенибут и его цитрат в предупреждении психоневрологических нарушений, вызванных хроническим стрессом - лишением парадоксальной фазы сна // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2012. - № 6. - С. 8-13.

26. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО "Издательство "Медицина", 2005, – 832 с.

27. Харкевич Д. А. Фармакология: учебник для ВУЗов / Д. А. Харкевич. – 12-е изд. – М.:ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 706 с.

28. Шатилова О. А. Экспериментальное изучение церебропротективных и психотропных свойств диакамфа: дис. … канд. фарм. Наук: 14.03.05. – Харьков. 2010. – 20 с.

29. Шведський В. В., Штриголь С. Ю., Мерзлікін С. І. Ефективність діакамфу гідрохлоріду при экспериментальному гострому порушенні мозкового кровообігу на тлі цукрового діабету // Актуальніпроблеми сучасноі медицини. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 84-88.

30. Шведський В. В., Штриголь С. Ю., Мерзлікін С. І., и др. Вплив діакамфу гідрохлориду на інтенсивність нейроапоптозу при експериментальному порушенні мозкового кровообігу на тлі цукрового діабету // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – Т. 27, №2. – С. 49-53.

31. Штрыголь С. Ю., Цубанова Н. А. Влияние спироциклического производного оксиндола на кровоснабжение мозга, деструкцию нейронов и кислотно-щелочной баланс при экспериментальной церебральной ишемии // Фармаком. – 2011. – № 4. – С. 60-63.

32. Яценко К. А., Глазова Н. Ю., Иноземцева Л. С., и др. Гептапептид семакс ослабляет последствия непредсказуемого хронического стресса у крыс // Доклады академии наук. 2013. – Т. 453(5). – С. 581-584.

33. Abercrombie H. C., Schaefer S. M., Larson C. L., [et all.]. Metabolic rate in the right amygdala predicts negative affect in depressed patients // Neuroreport. 1998. – № 9. – P. 3301–3307.

34. Abramets I. I., Sidorova Yu. V., Evdokimov D. V., Talalayenko A. N. The glutamatergic synaptic transmission mediated by ionotropic glutamate receptors in rat cerebral cortex in behavioral depression // Research in Neurology: an International

Journal.- 2013.- Vol. 2013. - Режим доступа: https://ibimapublishing.com/articles/RNIJ/2013/159123/

35. Ahmed A. H., Oswald R. E. Piracetam defines a new binding site for allosteric modulators of α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid (AMPA) receptors // J. Med. Chem. – 2010. – Vol. 53 (5). – P. 2197–2203.

36. Anderson I. M., Nutt D. J., Deakin J. F. W. Evidence–based guidelines for treating depressive illness with antidepressants: a revision of the 1993 British Association for Psychopharmacology guidelines // J. Psychopharmacol. – 2000. – Vol. 14. – P. 3–20.

37. Autry A. E., Adachi M., Cheng P., and Monteggia LM. Gender-specific impact of brain-derived neurotrophic factor signaling on stress-induced depression-like behavior // Biol. Psychiatry. – 2009. – Vol. 66. – P. 84–90.

38. Avital, A., Goshen, I., Kamsler, A., Segal, M., Iverfeldt, K., [et all.]. Impaired interleukin-1 signalling is associated with deficits in hippocampal memory processes and neural plasticity // Hippocampus. – 2003. – Vol. 13. – P. 826–834.

39. Baddeley. A. Working memory // Science. – 1992. – Vol. 255. – P. 556–559.

40, Baines C. P., Kaiser R. A., Purcell N. H., Blair N. S., [et all.]. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death // Nature. - 2005. - Vol. 434. - P. 658–662.

41. Balosso, S., Maroso, M., Sanchez-Alavez, M., Ravizza, T., [et all.]. A novel non-transcriptional pathway mediates the proconvulsive effects of interleukin-1beta // Brain. – 2008. – Vol. 131, 3256–3265.

42. Bankier, B., Barajas, J., Martinez-Rumayor, A., Januzzi, J.L. Association between major depressive disorder and C-reactive protein levels in stable coronary heart disease patients // J. Psychosom. Res. – 2009. – Vol. 66. – P. 189–194.

43. Basterzi A. D., Aydemir C., Kisa C., Aksaray S., Tuzer V., Yazici K., [et all.]. IL-6 levels decrease with SSRI treatment in patients with major depression // Hum Psychopharmacol. – 2005. – Vol. 20. – P. 473–476.

44. Bellinger F. P., Modamba S., Siggins GR. Interleukin-1b inhibit synaptic strength and long-term potentiation in the rat CA1 hippocampus // Brain Res. – 1993. – Vol. 628 (2). – P. 227–234.

45. Benelli A, Filaferro M., Bertolini A., [et al.]. Influence of S-adenosyl-L-methionine on chronic mild stressinduced anhedonia in castrated rats // British Journal of Pharmacology. – 1999. – Vol. 127(3). – P. 645–654.

46. Berman R. M., Capiello F., Anand A., [et all.]. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients // Biol Psychiatry. – 2000. – Vol. 47(4). – P. 351–354.

47. Bernard R, Kerman I. A., Thompson R. C., Jones E. G., [et all.]. Altered expression of glutamate signaling, growth factor, and glia genes in the locus coeruleus of patients with major depression // Mol. Psychiatry. – 2011. – Vol. 16. – P. 634–646.

48. Bonanno G, Giambelli R, Raiteri L, [et all.]. Chronic antidepressants reduce depolarization-evoked glutamate release and protein interactions favoring formation of SNARE complex in hippocampus // J. Neurosci. – 2005. – Vol. 25. – P. 3270–3279.

49. Bridges R., Lutgen V., Lobner D., Baker D. A.. Thinking Outside the Cleft to Understand Synaptic Activity: Contribution of the Cystine-Glutamate Antiporter (System xc_) to Normal and Pathological Glutamatergic Signaling // Pharmacol. Rev. – 2012. – Vol. 64 (3). – P. 780–802.

50. Britt J. P., Benaliouad F., McDevitt R. A., [et all.]. Synaptic and behavioral profile of multiple glutamatergic inputs to the nucleus accumbens // Neuron. – 2012. – Vol. 76. – P. 790–803.

51. Cao J. L. [et all.]. Mesolimbic dopamine neurons in the brain reward circuit mediate susceptibility to social defeat and antidepressant action // J. Neurosci. – 2010. – Vol. 30. – P. 16453–16458.

52. Cassano, T., Pace, L., Bedse, G., Lavecchia, A. M., De Marco, F., [et all.]. Glutamate and Mitochondria: Two Prominent Players in the Oxidative Stress-Induced Neurodegeneration // Current Alzheimer Research. – 2016. – Vol. 13(2). – P. 174-184.

53. Chase Francis, Ramesh Chandra, Danielle M. Friend, Eric Finkel, [et all.]. Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress // Biol. Psychiatry. – 2015. – Vol. 77 (3). – P. 212–222.

54. Chaudhury D., Walsh J. J., Friedman A. K., Juarez B., Ku S. M., [et all.]. Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons // Nature. – 2013. – Vol. 493. – P. 532–536.

55. Chen L, Li S., Cai J., [et all.]. Activation of CRF/CRFR1 signaling in the basolateral nucleus of the amygdala contributes to chronic forced swim-induced depressive-like behaviors in rats // Behab. Brain Res. – 2017. – Oct 27. – Vol. 338. – P. 134–142.

56. Chocyk A, Bobula B., Dudys D., [et all.]. Early-life stress affects the structural and functional plasticity of the medial prefrontal cortex in adolescent rats // Eur. J. Neurosci. – 2013. – № 38 (1) – P. 2089–2107.

57. Choudary P. V., Molnar M., Evans S. J., [et all.]. Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal transmission with glial involvement in depression // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2005. – Vol. 102. – P. 15653–15658.

58. Chuang D. M., Priller J. Potential use of lithium in neurodegenerative disorders. In: Bauer M, Grof P., Muler-Oerlingausen B (eds). Lithium in Neuropsychiatry: The Comprehensive Guide // Taylor & Francis: London. – 2006. – P. 381–397.

59. Cousens C. M., Kerr D. S., Abraham W. C. Glucocorticoid receptor activation lowers the threshold for NMDA receptor-dependent homosynaptic long-term depression in the hippocampus through activation of voltage-dependent calcium channels // J. Neurophysiol.- 1997.- Vol. 78 (1).- P. 1–9.

60. Covington H. E., Lobo M. K., Maze I. et al. Antidepressant effect of optogenetic stimulation of the medial prefrontal cortex // J. Neurosci. – 2010. – Vol. 30 (48). – P. 16082–16090.

61. Csordas G., Varnai P., Golenar T., Sheu S. S., Hajnoczky G. Calcium transport across the inner mitochondrial membrane: Molecular mechanisms and pharmacology // Mol. Cell. Endocrinol. – 2011. – Vol. 353. – P. 109–113.

62. Cullen K. R., Klimes-Dougan B., Muetzel R., Mueller B. A., Camchong J., Hoursi A et al. Altered white matter microstructure in adolescents with major depression: a preliminary study // J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry.– 2010. – Vol. 49 (2).– P. 173–183.

63. Danielle M. Gerharda, Eric S. Wohlebb, and Ronald S. Duman. Emerging treatment mechanisms for depression: focus on glutamate and synaptic plasticity // Drug Discov. Today. – 2016. – Vol. 21(3). – P. 454–464.

64. Dantzer, R., O'Connor, J.C., Freund G. G., Johnson R. W., and Kelley, K.W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain // Nat. Rev. Neurosci. – 2008. – Vol. 9. – P. 46–56.

65. De Almeida L. M., Leite M. C., Tomazi A. P. [et all.]. Rosveratrol protects against oxidative injury induced by H_2O_2 in acute hippocampal slice preparations from Wistar rats// Arch. Biochem. Biophys. 2008.- Vol. 480 (1).- P. 27 – 32.

66. De Felipe J., López-Cruz P. L., Benavides-Piccione, [et all.]. New insights into the classification and nomenclature of cortical GABAergic interneurons // Nat. Rev. Neurosci. – 2013. – Vol. 14. – P. 202–216.

67. Der Avakian A, Markou A. The neurobiology of anhedonia and other reward-related deficits // Trends Neurosci. – 2012. – Vol. 35 (1). – P. 68–77.

68. Drago I., Pizzo P., Pozzan T. After half a century mitochondrial calcium in- and efflux machineries reveal themselves // EMBO J. – 2011. – Vol. 30. – P. 4119–4125.

69. Dranovsky A., Hen R. Hippocampal neurogenesis: regulation by stress and antidepressants // Biol. Psych. – 2006. – Vol. 59. – P. 1136–1143.

70. Drevets W.C. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive–emotional features of mood disorders // Curr. Opin. Neurobiol. – 2001. – Vol. 11. – P. 240–249.

71. Du J., Suzuki K., Wei Y., [et all.]. The anticonvulsants lamotrigine, riluzole, and valproate differentially regulate AMPA receptor membrane localization: relationship to clinical effects in mood disorders // Neuropsychopharmacology. – 2007. – Vol. 32. – P. 793–802.

72. Duivis H. E., de Jonge, P., Penninx B. W., Na B. Y., Cohen B. E., and Whooley M.A. Depressive symptoms health behaviors, and subsequent inflammation in patients with coronary heart disease: prospective findings from the heart and soul study // Am. J. Psychiatry. 2011. – Vol. 168. – P. 913–920.

73. Duman R. S., Monteggia L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders // Biol. Psychiatry. – 2006. – Vol. 59. – P. 1116–1127.

74. Duman R. S., Aghajanian G. K. Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets // Science. – 2012. – Vol. 338 – P. 68–72.

75. Duman RS. Depression: a case of neuronal life and death? // Biol. Psych. – 2004. – Vol. 56. – P. 140–145.

76. Enneking V., Krussel P., Zaremba D., [et all.]. Social anhedonia in major depressive disorder: a symptom-specific neuroimaging approach // Neuropsychopharmacology.- 2019.- Vol. 44 (5). – P. 883–889.

77. Faber E. S., Delaney A. J. & Sah, P. SK channels regulate excitatory synaptic transmission and plasticity in the lateral amygdala // Nature Neurosci. – 2005. – Vol. 8. – P. 635–641.

78. Frankland P. W., Teixeira CM. A pain in the ACC // Mol. Pain. – 2005. – Vol. 1 (1). – P. 1–14.

79. Freeze B. S., Kravitz A. V., Hammack N., [et all.]. Control of basal ganglia output by direct and indirect pathway projection neurons // J. Neurosci. – 2013. – Vol. 33. – P. 18531–18539.

80. Frodl T., Meisensahl E., Zetzsche T.[et all.]. Enlargement of the amygdala in patients with first episode of major depression // Biol Psych. – 2002. – Vol. 51. – P. 708–714.

81. Gal Richter-Levin, Lin Xu. How could stress lead to major depressive disorder? // J. Elsevier. IBRO Reports. – 2018. – Vol. 4. – P. 38-43.

82. Gallassi R., Di Sarro R., Morreale A., Amore M. Memory impairment in patients with late-onset major depression: the effect of antidepressant therapy // J. Affect Disord. – 2006. – Vol. 91. – P. 243–250.

83. Gerhard D. M., Wohleb E. S., Duman R. S. Emerging treatment mechanisms for depression: focus on glutamate and synaptic plasticity // Drug Discov. Today.– 2016.– Vol. 21 (3).– P. 454–464.

84. Gimeno, D., Kivimaki, M., Brunner E. J., Elovainio, M., [et all.]. Associations of C-reactive protein and interleukin-6 with cognitive symptoms of depression: 12-year follow-up of the Whitehall II study // Psychol. Med. - 2009. - Vol. 39. – P. 413–423.

85. Gislaine Z. Reus, Helena M. Abaleira, Monique Michels, [et all.]. Anxious phenotypes plus environmental stressors are related to brain DNA damage and changes in NMDA receptor subunits and glutamate uptake // Mutation Research. – 2015. – Vol. 772. – P. 30–37.

86. Goldwater D. S., Pavlides C., Hunter R G, [et all.]. Structural and functional alterations to rat medial prefrontal cortex following chronic restraint stress and recovery // Neuroscience. – 2009. – Vol. 164 (2). – P. 798–808.

87. Gorman J. M., Docherty J. P. A hypothesized role for dendritic remodeling in the etiology of mood and anxiety disorders // J Neuropsychiatry Clin Neurosci. – 2010 Vol. 22 (3). – P. 256–264.

88. Govindarajan A, Rao B. S., Nair D., [et all.]. Transgenic brain-derived neurotrophic factor expression causes both anxiogenic and antidepressant effects // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2006. – Vol. 103. – P. 13208–13213.

89. Gras G., Samah B., Hubert A., Leone C., [et all.]. EAAT expression by macrophages and microglia: still more questions than answers // Amino Acids. - 2012. - Vol. 42. - P. 221–229.

90. Greenberg P. E., [et all.]. The economic burden of adults with major depressive disorder in the United States (2005 and 2010) // J Clin. Psychiatry. – 2015. – Vol. 76 (2). – P. 155–162.

91. Grieve S. M., Korgaonkar M. S., Koslow S. H., Gordon E., Williams LM. Widespread reductions in gray matter volume in depression // Neuroimage Clin. – 2013. – Vol. 6 (3). – P. 332–339.

92. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine // B. Halliwell. – Oxford: Oxford University Press. 4th edition. – 2007. – 851 p.

93. Han K. M., Choi S., Jung J., [et all.]. Cortical thickness, cortical and subcortical volume, and white matter integrity in patients with their first episode of major depression // J. Affect Disord. – 2014. – Vol. 155. – P. 42–48.

94. Hardingham G. E., Bading H., Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders // Nat. Rev. Neurosci. – 2010. – Vol. 11. – P. 682–696.

95. Haroon E., Miller A. H., Sanacora G. Inflammation, glutamate, and glia: a trio of trouble in mood disorders // Neuropsycopharmacol. – 2017. – Vol. 42 (2). – P. 193–215.

96. Hashimoto K. Emerging role of glutamate in the pathophysiology of major depressive disorder // Brain Res. Rev. – 2009. – Vol. 61. – P. 105–123.

97. He P., Liu Q., Wu J., Shen Y. Genetic deletion of TNF receptor suppresses excitatory synaptic transmission via reducing AMPA receptor synaptic localization in cortical neurons // FASEB J. – 2012. – Vol. 26. – P. 334–345.

98. Heidbreder C. A., and Groenewegen, H. J. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2003. – Vol. 27. – P. 555–579.

99, Hellweg R, et al. Efficacy of memantine in delaying clinical worsening in Alzheimer’s disease (AD): responder analyses of nine clinical trials with patients with moderate to severe AD // Int. J. Geriatr. Psychiatry.– 2012.– Vol. 27 (6).– P. 651–656.

100. Hestrin S., Nicoll R. A., Perkel D. J., [et all.].. Analysis of excitatory synaptic action in pyramidal cells using whole-cell recording from rat hippocampal slices // J. Physiol. (Lond).-1990.– 422 (1).– P. 203 –225.

101. Holtzheimer P. E., Mayberg H S. Deep brain stimulation for psychiatric disorders // Annu. Rev. Neurosci. – 2011. – Vol. 34. – P. 289 –307.

102. Huang K. F., Huang W. T., Lin K. C., Lin M. T., Chang C. P. Interleukin-1 receptor antagonist inhibits the release of glutamate, hydroxyl radicals, and prostaglandin E(2) in the hypothalamus during pyrogen-induced fever in rabbits // Eur. J. Pharmacol. – 2010. – Vol. 629. – P. 125–131.

103. Husain M. M., McDonald W. M., Doraiswamy P. M., [et all.]. A magnetic resonance imaging study of putamen nuclei in major depression // Psychiatry Res. - 1991. – Vol. 40. – P. 95–99.

104. Jiménez-Fernández S., Gurpegui M., F. Díaz-Atienza, [et all.]. Oxidative stress and antioxidant parameters in patients with major depressive disorder compared to healthy controls before and after antidepressant treatment: results from a meta-analysis // J. Clin Psychiatry. – 2015. – Vol. 76(12). – P. 1658–1667.

105. Jorgensen A., Krogh J., Miskowiak K. [et all.]. Systemic oxidatively generated DNA/RNA damage in clinical depression: associations to symptom severity and response to electroconvulsive therapy // J. Affect. Disord. – 2013. – Vol. 149. – P. 355–362.

106, Kang H. J., Voleti B., Hajszan T., [et all.]. Decreased expression of synapse-related genes and loss of synapses in major depressive disorder // Nat. Med. – 2012. – № 18. – P. 1413–1417.

107. Keil U., I.l Scherping, S. Hauptmann [et al.]. Piracetam improves mitochondrial dysfunction following oxidative stress // Br. J. Pharmacol. – 2006. – Vol. 147 (1). – P. 199–208.

108. Kessler R. C., Berglund P., Demler O., [et all.]. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R) // JAMA. – 2003. – Vol. 289. – P. 3095–3105.

109. Kim J. S., Schmid-Burgk W., Claus D., [et all.]. Increased serum glutamate in depressed patients // Arch. Psychiatr. Nervenkr. – 1982. – Vol. 232. – P. 299–304.

110. Knowland D., LimB. K. Circuit-based frameworks of depressive behavior: the role of reward circuitry and beyond // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2017. – Vol. 174(11). – P. 42–52.

111. Koike H., Iijima M., Chaki S. Involvement of AMPA receptor in both the rapid and sustained antidepressant-like effects of ketamine in animal models of depression // Behav Brain Res. – 2011. – Vol. 224(1). – P. 107–111.

112. Koo J. W., Labonté B., Engmann O., Calipari E. S., [et all.]. Essential role of mesolimbic brain-derived neurotrophic factor in chronic social stress–induced depressive behaviors // Biol. Psychiatry. – 2016. – Vol. 80 (5). – P. 469–478.

113. Koot S., Koukou M., Baars A., Hesseling P., [et all.]. Corticosterone and decision-making in male Wistar rats: the effect of 9 corticosterone application in the infralimbic and orbitofrontal cortex // Front. Behav. Neurosci. – 2014. – Vol. 8. – P. 1–10.

114. Korgaonkar M. S., Fornito A., Williams L. M., Grieve S. M. Abnormal structural networks characterize major depressive disorder: a connectome analysis // Biol. Psychiatry. – 2014. – Vol. 76 (7). – P. 567–574.

115. Krishnan V., [et all.]. AKT signaling within the ventral tegmental area regulates cellular and behavioral responses to stressful stimuli // Biol. Psychiatry. – 2008. – Vol. 64. – P. 691–700.

116. Krishnan V., Nestler E. J. Animal models of depression: molecular perspectives // Curr. Top Behav. Neurosci. – 2011. – Vol. 7(2). – P. 121–147.

117. Krishnan V., Nestler E. J. Linking molecules to mood: new insight into the biology of depression // Am. J. Psychiatry. – 2010. – Vol. 167. – P. 1305–1320.

118. Kruman I. I., Culmsee C., Chan S. L., [et all.]. Homocysteine elicits a NA damage esponse in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity // J. Neurosci. – 2000. – Vol. 20. – P. 6920–6926.

119. Lamers F., Milaneschi Y., Smit J. H., [et all.]. Longitudinal association between depression and inflammatory markers: results from the Netherlands study of depression and anxiety // Biol. Psychiatry.- 2019.– Vol. 85 (10).– P. 829–837.

120. Lepack A. E., Fuchikami M., Dwyer J. M. [et all.]. BDNF release Is required for the behavioral actions of ketamine // Int. J. Neuropsychopharmacology. – 2014. – Vol. 17 (1). – P. 1–6.

121. Li M, Metzger C. D., Li W., [et all.]. Dissociation of glutamate and cortical thickness is restricted to regions subserving trait but not state markers in major depressive disorder // J. Affect Disord. – 2014. – Vol. 169. — P. 91–100.

122. Li N, Liu R. J., Dwyer J. M., [et all.].. Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure // Biol. Psychiatry. – 2011. – Vol. 69 (8). – P. 754–761.

123. Li N., [et all.]. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists // Science. – 2010. – Vol. 329 (5994). – P. 959–964.

124. Liang Jing, Ting-Ting Duan, Meng Tian, [et all.]. Despair-associated memory requires a slow-onset CA1 longterm potentiation with unique underlying mechanisms // A Nature Research Journal. Scientific Reports. – 2015. – Vol. 10. – P. 1–13.

125. Likhtik E., Pelletier J. G., Paz R., Pare D. Prefrontal control of the amygdala // J. Neurosci. – 2005. – Vol. 25. – P. 7429–7437.

126. Lim B. K., Huang K. W., Grueter B. A., [et all.]. Anhedonia requires MC4R-mediated synaptic adaptations in nucleus accumbens // Nature. – 2012. – Vol. 487. – P. 183–189.

127. Liston C., et al. Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting // J. Neurosci. – 2006. – Vol. 26 (30). – P. 7870–7874.

128. Little J. P., and Carter, A. G. Subcellular synaptic connectivity of layer 2 pyramidal neurons in the medial prefrontal cortex // J. Neurosci. – 2012. – Vol. 32. – P. 12808–12819.

129. Liu R. J., Aghajanian G. K. Stress blunts serotonin- and hypocretin-evoked EPSCs in prefrontal cortex: role of corticosterone-mediated apical dendritic atrophy // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2008. – Vol. 105(1). – P. 359–364.

130. Liu Y., Wong T. P., Aarts M., [et all.]. NMDA receptor subunits have differential roles in mediating excitotoxic neuronal death both in vitro and in vivo // J. Neurosci. – 2007. – Vol. 27. – P. 2846–2857.

131. Lorenzetti V, Allen N. B., Fornito A., Yücel M. Structural brain abnormalities in major depressive disorder: a selective review of recent MRI studies // J Affect Disord. – 2009. – Vol. 117 (1–2). – P. 1–17.

132. Lorrain D. S., [et all.]. Effects of ketamine and N-methyl-D-aspartate on glutamate and dopamine release in the rat prefrontal cortex: modulation by a group II selective metabotropic glutamate receptor agonist LY379268 // Neuroscience. – 2003. – Vol. 117(3). – P. 697–706.

133. Lucassen P. J., et al. Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action // Eur. Neuropsychopharmacol. – 2010. – Vol. 20 (1). – P. 1–17.

134. Macario A. J., Cappello F., Zummo G., Conway de Macario E. Chaperonopathies of senescence and the scrambling of interactions between the chaperoning and the immune systems // Ann NY Acad. Sci. – 2010. – Vol. 1197. – P. 85–93.

135. MacLullich M.J., Ferguson K. J., Reid L. M. 11-hydroxysteroid dehydrogenase type 1, brain atrophy, and cognitive decline // Neurobiol. Aging. – 2012. – Vol. 33 (2). – P. 207–213.

136. Magalhaes R., Novais A., David A., [et all.]. A Resting-state functional MR imaging and spectroscopy study of the dorsal hippocampus in the chronic

unpredictable stress rat model // Journal of Neuroscience. - 2019. Vol. 39 (19). - P. 3640-3650.

137. Magarinos A. M., McEwen B. S., Flugge G., [et all.]. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews // J. Neurosci. – 1996. – Vol. 16. – P. 3534–3540.

138. Malin, E. L., Ibrahim, D. Y., Tu, J. W. [et all.]. Involvement of the rostral anterior cingulate cortex in consolidation of inhibitory avoidance memory: interaction with the basolateral amygdala// Neurobiol. Learn. Mem.– 2007. – Vol. 87.– P. 295–302.

139. Margulies D. S., Kelly A. M., Uddin L. Q., [et all.]. Mapping the functional connectivity of anterior cingulate cortex // Neuroimage. – 2007. – Vol. 37, № 2. – P. 579–588.

140. Marrocco J., M.-L. Reynaert, Gatta E., Gabriel C., [et all.]. The Effects of Antidepressant Treatment in Prenatally Stressed Rats Support the Glutamatergic Hypothesis of Stress-Related Disorders // The Journal of Neuroscience. – 2014. – Vol. 34(6). – P. 2015–2024.

141. Martin HG, Wang YT. Blocking the deadly effects of the NMDA receptor in stroke // Cell. – 2010. – Vol. 140 (2).– P. 174–176.

142. Martinovich K, Lu B. Interaction between BDNF and serotonin: role in mood disorders // Neuropsychopharmacol. – 2008. – Vol. 33 (1). – P. 73–83.

143. McEwen B. S., et al. Stress and anxiety: structural plasticity and epigenetic regulation as a consequence of stress // Neuropharmacology. – 2012. – Vol. 62(1). – P. 3–12.

144. McEwen B. S., Nasca C., Gray J. D. Stress effects on neuronal structure: hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex // Neuropsychopharmacology. – 2016. – Vol. 41. – P. 3–23.

145. Millan M. J. Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application // Pharmacol. Ther. – 2006. – Vol. 110 (2). – P. 135–370.

146. Miller A. H., Raison C. L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target // Nat. Rev. Immunol. – 2016. – Vol. 16. – P. 22–34.

147. Miller O. H , Yang Lingling , Wang Chih-Chieh [et all.]. GluN2B-containing NMDA receptors regulate depression-like behavior and are critical for the rapid antidepressant actions of ketamine // eLife. – 2014. – Vol.3. – P. 1–10.

148. Mitani H., Shirayama Y., Yamada T., [et all.]. Correlation between plasma levels of glutamate, alanine and serine with severity of depression // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2006. – Vol. 30. – P. 1155–1158.

149. Mitra R, Sapolsky R. M. Expression of chimeric estrogen-glucocorticoid-receptor in the amygdala reduces anxiety // Brain Res. – 2010. – Jun 25. – Vol. 1342. – P. 33-37.

150. Moretti M., Colla A., G. de Oliveira Balen, [et all.]. Ascorbic acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress // J. Psychiatr. Res. – 2012. – Vol. 46. – P. 331–340.

151. Muir J., Lopez J., Bagot R. C. Wiring the depressed brain: optogenetic and chemogenetic circuit interrogation in animal models of depression // Neuropsychopharmacology.- 2019.- Vol. 44 (6).- P. 1013–1026.

152. Musazzi L., Treccani G., Mallei A., Popoli M. The action of antidepressants on the glutamate system: regulation of glutamate release and glutamate receptors // Biol Psychiatry. – 2013. – Vol. 73. – P. 1180–1188.

153. Musazzi L., Treccani G., Perego C., [et all.]. Synaptic stress, changes in glutamate transmission and circuitry, and psychopatology // Synaptic Stress and Pathogenesis of Neuropsychiatric Disorders. Springer Press. – 2014. – P. 33–52.

154. Nayanatara A. K., Tripathi Y. Nagaraja HS, Jeganathan P. S. Ramaswamy C, [et all.]. Effects of stress – induced malondialdehyd level in defferent brain tissues in selective subcortical lesioned wistar rats // International Journal of Advanced Research. – 2013. – Vol. 1(4). – P. 148-154.

155. Niciu M. J., Ionescu D. F., Richards E. M., Zarate C. A. Glutamate and its receptors in the pathophysiology and treatment of major depressive disorder // J. Neural. Transm. – 2014. – Vol. 121. – P. 907–924.

156. O'Connor J. C., Lawson M. A., [et all.]. Induction of IDO by Bacille Calmette-Gue´rin Is Responsible for Development of Murine Depressive-Like Behavior // The Journal of Immunology. – 2009. – Vol. 182. – P. 3202–3212.

157. Overstreet D. H. Modeling depression in animal models // Methods Mol. Biol. – 2012. – Vol. 829. – P. 125–144.

158. Paul I. A., Skolnick P. Glutamate and depression: clinical and preclinical studies // Ann NY Acad Sci. – 2003. – Vol. 1003. – P. 250–272.

159. Phensy A., Driskill C., Lindquist K., Guo L., Jeevakumar V., Fowler B. et al. Antioxidant Treatment in Male Mice Prevents Mitochondrial and Synaptic Changes in an NMDA Receptor Dysfunction Model of Schizophrenia // eNeuro. – 2017. – Vol. 4 (4). – P. 1-–13.

160. Pitenger C, Duman R. S. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms // Neurosychopharmacology. – 2008. – Vol. 33 (1). – P. 88–109.

161. Pitk¨anen A., Savander V., and LeDoux J. E. Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: An emerging framework for understanding functions of the amygdala // Trends Neurosci. – 1997. – Vol. 20. – P. 517–523.

162. Pittenger C., Sanacora G., Krystal J. H. The NMDA receptor as a therapeutic target in major depressive disorder CNS // Neurol. DisordFDrug Targets. – 2007. – Vol. 6. – P. 101–115.

163. Pizzagalli D. A., Frontocingulate dysfunction in depression: toward biomarkers of treatment response // Neuropsychopharmacol. Rev. – 2011. – Vol. 36. – P. 183-206.

164. Popoli M., Jan Z., McEwen B. S., Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission // Nat. Rev. Neurosci. – 2012. – Vol. 3 (1). – P. 22-37.

165. Porsolt R. D., Bertin A., Jalfre M. “Behavioural despair” in rats and mice: strain differences and effects of imipramine // Eur J Pharmacol. – 1978. – Vol. 51(2). – P. 291–294.

166. Price J. L., Drevets W. C. Neural circuits underlying the pathophysiology of mood disorders // Trends Cogn. Sci. – 2012. – Vol. 16 (1). – P. 61–71.

167. Price J. L., Drevets WC. Neurocircuitry of mood disorders // Neuropsychopharmacology. – 2010. № 35. – P. 192–216.

168. Ranjana K., Negi R., Pande D., Khanna S., Khanna H. D.. Markers of oxidative stress in generalized anxiety psychiatric disorder: therapeutic implications // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2012. – Vol. 8 (2). – P. 32−38.

169. Reddy M. S., Depression: the disorder and the burden // Indian J Psychol Med. – 2010. – Vol. 32(1). – P. 1–12.

170. Reddy P. H., Mitochondrial medicine for aging and neurodegenerative diseases // Neuromolecular Med. – 2008. – Vol. 10 (4). – P. 291–315.

171. Reus G. Z., Stringari R. B., Ribeiro K. F., [et all.]. Ketamine plus imipramine treatment induces antidepressant-like behavior and increases CREB and BDNF protein levels and PKA and PKC phosphorylation in rat brain // Behav. Brain Res. – 2011. – Vol. 221. – P. 166–171.

172. Reus G. Z., Abelaira H. M., Stringari R. B., [et all.]. Memantine treatment reverses anhedonia, normalizes corticosterone levels and increases BDNF levels in the prefrontal cortex induced by chronic mild stress in rats // Metab. Brain Dis. – 2012. – Vol. 27. – P. 175–182.

173. Riga M., Matos M. R., Glas A. Optogenetic dissection of medial prefrontal cortex circuitry // Frontiers Syst Neurosci. – 2014. – Vol. 8. – Article 230.

174. Rose CR, Blum R., Kafitz K. W., Kovalchuk Y., and Konnerth A. From modulator to mediator: rapid effects of BDNF on ion channels // Bioessays. – 2004. – Vol. 26. – P. 1185–1194

175. Sanacora G., Treccani G., Popoli M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders // Neuropharmacology. – 2012. – Vol. 62. – P. 63–77.

176. Sapolsky R. M. Stress and plasticity in the limbic system // Neurochem Res. – 2003. – Vol. 28. – P. 1735–1742.

177. Sapolsky R. M., Krey L., McEwen B. Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: implications for aging // J. Neurosci. – 1985. – № 5. – P. 1221–1227.

178. Sarandol A., Sarandol E., Eker S. S., [et all.]. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: Short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems // Hum. Psychopharmacol. – 2007. – Vol. 22. – P. 67–73.

179. Savitz J., Drevets W. C. Bipolar and major depressive disorder: neuroimaging the developmental degenerative divide // Neurosci Biobehav Rev. – 2009. – Vol. 33(5). – P. 699–771.

180. Schildraut J. J., The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence // Am J Psychiatry. – 1965. – Vol. 122. – P. 509–522.

181. Scott J. Russo and Eric J. Nestler. The brain reward circuitry in mood disorders // Nature reviews Neuroscience. – 2013. – Vol. 14. – P. 609–625.

182. Serchov T., H.W., Schwarz M.K., Iasevoli F., [et all.]. Increased signaling via adenosine A1 receptors, sleep deprivation, imipramine, and ketamine inhibit depression-like behavior via induction of Homer1a // Neuron. – 2015. – Vol. 87, №2. P. 549–562.

183. Serviddio G., Romano A. D., Cassano T., [et all.]. Principles and therapeutic relevance for targeting mitochondria in aging and neurodegenerative disease // Curr. Pharm. Design. – 2011. – Vol. 17(20). – P. 2036–2055.

184. Shalbuyeva N., Brustovetsky T., Bolshakov A., Brustovetsky N. Calciumdependent spontaneously reversible remodeling of brain mitochondria // J. Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281. – P. 37547–37558.

185. Shansky R. M., Morrison J. H. Stress-induced dendritic remodeling in the medial prefrontal cortex: effects of circuit, hormones and rest // Brain Res. – 2009. – Vol. 1293. – P. 108–13.

186. Skolnick, Popik P., P. & Trullas R. Glutamate-based antidepressants: 20 years on // Trends Pharmacol. Sci. – 2009. – Vol. 30 (11). – P. 563–569.

187. Slavich G. M., Irwin MR. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression // Psychol Bull. – 2014. – Vol. 140. – P. 774–815.

188. Sowa J., Bobula B., Glombik K., [et all.]. Prenatal stress enhances excitatory synaptic transmission and impairs long-term potentiation in the frontal cortex of adult offspring rats // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10(3). – P. e0119407.

189. Stone E. A., Lin Y. Open-space forced swim model of depression for mice // Curr. Protoc. Neurosci. – 2011. – Vol. 9 (9). – P. 1–36.

190. Stout A. K., Raphael H. M., Kanterewicz B. I., [et all.]. Glutamate-induced neuron death requires mitochondrial calcium uptake // Nature Neurosci. – 1998. – Vol. 1. - P. 366–373.

191. Stuber G. D., Sparta D. R., Stamatakis A. M., [et all.]. Excitatory transmission from the amygdala to nucleus accumbens facilitates reward seeking // Nature. – 2011. – Vol. 475. – P. 377–380.

192. Sun P, Wang F., Wang L., et al. Increase in cortical pyramidal cell excitability accompanies depressionlike behavior in mice: a transcranial magnetic stimulation study // Journal of Neuroscience. – 2011. – Vol. 31(45). – P. 16464–16472.

193. Tang Y. P., Shimizu, E., Dube G. R., et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice // Nature. – 1999. – Vol. 401. – P. 63−69.

194. Taniguchi S., Nakazawa T., Tanimura A., [et all.]. Involvement of NMDAR2A tyrosine phosphorylation in depression-related behaviour // EMBO J. – 2009. – Vol. 28. – P. 3717–3729.

195. Tata D. A., Yamamoto B. K. Chronic stress enhances methamphetamine-induced extracellular glutamate and excitotoxicity in the rat striatum // Synapse. – 2008. – Vol. 62(5). – P. 325–36.

196. Tian G. F., Baker A. J. Protective effect of high glucose against ischemia-induced synaptic transmission damage in rat hippocampal slices// J. Neurophysiol.- 2002.- Vol. 88 (2).- P. 236 – 248.

197. Tiraboschi E, Giambelli R, D'Urso G, [et all.]. Antidepressants activate CaMKII in neuron cell body by Thr286 phosphorylation // Neuroreport. – 2004. – Vol. 15. – P. 2393–2396.

198. Tsai H. C., Zhang F., Adamantidis A., Stuber G. D., Bonci A., de Lecea L, [et al.]. Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning // Science. – 2009. – Vol. 324. – P. 1080–1084.

199. Tse Y. C., Lopez J., Moquin A., [et all.]. The susceptibility to chronic social defeat stress is related to low hippocampal extrasynaptic NMDA receptor function // Neropsychopharmacology.- 2019.- Vol. 44 (7).– P. 1310–1318.

200. Turski W. A., Gramsbergen J. B., Traitler H., and R. Schwarcz. Rat brain slices produce and liberate kynurenic acid upon exposure to L-kynurenine // J. Neurochem. – 1989. – Vol. 52. – P. 1629–1636.

201. Tyler W. J., Zhang X. L., Hartman K., Winterer J., [et all.]. BDNF increases release probability and the size of a rapidly recycling vesicle pool within rat hippocampal excitatory synapses // J. Physiol. – 2006. – Vol. 574. – P. 787–803.

202. Undurraga J., Baldessarini R. J. Randomized, placebo-controlled trials of antidepressants for acute major depression: thirty-year meta-analytic review // Neuropsychopharmacology. – 2012. – Vol. 37(4). – P. 851– 64.

203. Vezzani A., Viviani B. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability // Neuropharmacology. – 2015. – Vol. 96. – P. 70–82.

204. Vialou V., et al. Serum response factor promotes resilience to chronic social stress through the induction of ΔfosB // J. Neurosci. – 2010. – Vol. 30. – P. 14585–14592.

205. Viviani B., Boraso M., Marchetti N., Marinovich, M. Perspectives on neuroinflammation and excitotoxicity: a neurotoxic conspiracy? // Neurotoxicology. – 2014. – Vol. 43. – P. 10–20.

206. Vyas A., Mitra R., Shankaranarayana Rao B.S., Chattarji S. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons // J. Neurosci. – Vol. 22. – P. 6810–6818.

207. Vyas A., Pillai A. G., Chatarji S. Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior // Neuroscience. – 2004. – Vol. 128. – P. 667–673.

208. Walsh J. J., Friedman A. K., Sun H., Heller E. A., [et all.]. Stress and CRF gate neural activation of BDNF in the mesolimbic reward pathway // Nat. Neurosci. – 2014. – Vol. 17. – P. 27–29.

209. Wang C. C., Held R. G., Chang S. C., Yang L., [et all.]. A critical role for GluN2B-containing NMDA receptors in cortical development and function // Neuron. – 2011. – Vol. 72. – P. 789–805.

210. Wang D. S., Zurek A. A., Lecker, I., Yu, J., Abramian A. M., [et all.]. Memory deficits induced by inflammation are regulated by alpha5-subunit containing GABAA receptors // Cell Rep. – 2012. – Vol. 2. – P. 488–496.

211. Warden M. R., Selimbeyoglu A., Mirzabekov J. J., [et all.]. A prefrontal cortex-brainstem neuronal projection that controls response to behavioural challenge // Nature. – 2012. – Vol. 492 (7429). – P. 428–432.

212. Wass C. E., Andreazza A. The Redox Brain and Nitric Oxide: Implications for Psychiatric Illness // J. Pharmacol. Clin. Toxicol. – 2013. – Vol. 1(1). – P. 1008 - 1018.

213. Wei J., Yuen E. Y., Liu W., [et all.]. Estrogen protects against the detrimental effects of repeated stress on glutamatergic transmission and cognition // Mol. Psychiatry . – 2014. – Vol. 19. – P. 588–598.

214. Whooley M. A., Caska C. M., Hendrickson B. E., Rourke M. A., Ho, J., and Ali, S. Depression and inflammation in patients with coronary heart disease: findings from the heart and soul study // Biol. Psychiatry. – 2007. – Vol. 62. – P. 314–320.

215. Wilkinson M. B., et al. A novel role of the WNT–dishevelled–GSK3β signaling cascade in the mouse nucleus accumbens in a social defeat model of depression // J. Neurosci. – 2011. – Vol. 31. – P. 9084–9092.

216. Willner P, Scheel-Krüger J, Belzung C. The neurobiology of depression and antidepressant action // Neurosci Biobehav. Rev. – 2013. – Vol. 37. – P. 2331–2371.

217. Xu H., Wu L-J., Wang H., [et all.]. Presynaptic and postsynaptic amplifications of neuropathic pain in the anterior cingulate cortex // J. Neurosci. – 2008. – Vol. 28 (29). – P. 7445–7453.

218. Xu L, Anwyl R., Rowan MJ. Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus // Nature. – 1997. – Vol. 387. – P. 497–500.

219. Yadav R., Gupta S. C., Hillman B. G., [et all.]. Deletion of glutamate delta-1 receptor in mouse leads to aberrant emotional and social behaviors // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7 (3). P. 1–38.

220. Yizhar O., Fenno L. E., Prigge M., [et all.]. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction // Nature. – 2011. – Vol. 477 (7363). – P. 171–178.

221. Yoshii A, Constantine-Paton M. Postsynaptic BDNF-TrkB signaling in synapse maturation, plasticity, and disease // Dev Neurobiol. – 2010. – Vol. 70. – P. 304–322.

222. Yoshimura S., Okamoto Y., Onoda K., [et all.]. Rostral anterior cingulate cortex activity mediates the relationship between the depressive symptoms and the medial prefrontal cortex activity // J. Affect. Disord. – 2010. – Vol. 122 (1). – P. 76–85.

223. Yu H., Chen Z. Y. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry // Acta. Pharmacol. Sin. – 2011. – Vol. 32. – P. 3–11.

224. Yuen E. Y., Wei J., Liu W., Zhong P., Li X., Yan Z. Repeated stress causes cognitive impairment by suppressing glutamate receptor expression and function in prefrontal cortex // Neuron. – 2012. – Vol. 73. – P. 962–977.

225. Yuen E. Y., Zhong P., Li X., [et all.]. Restoration of glutamatergic transmission by dopamine D4 receptors in stressed animals // J. Biol. Chem. – 2013. – Vol. 288. – P. 26112–261120.

226. Zarate C. A., Singh J. B., Carlson PJ. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression // Arch Gen Psychiatry. – 2006. – Vol. 63(4). – P. 856–864.

227. Zhang X. H., Jia N., Zhao X. Y., [et all.]. Involvement of pGluR1, EAAT2 and EAAT3 in offspring depression induced by prenatal stress // Neuroscience. – 2013. – Vol. 250. – P. 333–341.

228. Zhou C., Tai C., Ye H. H., Ren X., [et all.]. Interleukin-1beta downregulates the L-type Ca2+ channel activity by depressing the expression of channel protein in cortical neurons // J. Cell. Physiol. – 2006. – Vol. 206. – P. 799–806.