

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии
Российской академии наук
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы
«Научно-практический психоневрологический центр им З.П. Соловьева»
Департамента здравоохранения города Москвы**

На правах рукописи

ФРЕЙМАН СОФЬЯ ВЛАДИМИРОВНА

**НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СТРЕСС-РЕАЛИЗУЮЩИХ
СИСТЕМ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫМ
ПОВЕДЕНИЕМ: ТРАНСЛЯЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

03.03.01 – Физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Онуфриев Михаил Валериевич

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Оглавление

1.	ВВЕДЕНИЕ.....	4
2.	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	8
2.1	Физиолого-биохимическая реализация стрессорного ответа	8
2.2	Симпато-адреналовая система	10
2.3	Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (ГГНС).....	10
2.4	Система цитокинов.....	12
2.5	Система нейротрофических факторов.....	15
2.6	Расстройства депрессивного спектра	17
2.7	Депрессия: теории патогенеза.....	19
2.8	Генетическое и аллостатическое программирование	24
2.9	Модельные методы исследования депрессии.....	27
2.10	Тесты на выявление депрессивно-подобного поведения у крыс.....	32
3	ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
4	МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	38
4.1	Модель выработки депрессивно-подобного поведения у крыс с помощью ХНС ...	39
4.2	Моделирование и подтверждение тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс с помощью НПС.....	40
4.3	Клиническая часть эксперимента	44
4.4	Работа с биоматериалом: экспериментальная часть работы.....	46
4.5	Работа с биоматериалом: клиническая часть работы	48
4.6	Статистическая обработка данных	50
5	РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	51
5.1	Сравнение валидности тестов «вынужденное плавание» и «предпочтение раствора сахарозы» на модели депрессии, индуцированной ХНС	51

5.2 Формирование тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс после НПС	54
5.3 Влияние НПС на функциональное состояние ГГНС, систем провоспалительных цитокинов и нейротрофинов у взрослых крыс.....	61
5.4 Функционально-биохимические нарушения у людей с ТДС в исходном состоянии и в условиях стресса.....	77
6 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	86
7 ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	94
8 ВЫВОДЫ.....	96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	98
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	113
СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ АВТОРА, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	119
Приложение А. Форма информированного согласия пациента на участие в исследовании.	120

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы и степень ее разработанности. Стресс ассоциирован со многими хроническими заболеваниями, например, с аутоиммунными заболеваниями, астмой, диабетом, язвой желудка, атеросклерозом, но наиболее сильно – с расстройствами депрессивного спектра. Увеличение риска развития ассоциированных со стрессом заболеваний может происходить в результате хронического стресса, а также вследствие аллостатического программирования в раннем онтогенезе систем, напрямую или опосредованно вовлеченных в реализацию стрессорного ответа. Изучение воздействия неонатального стресса на функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), систем нейротрофических факторов и провоспалительных цитокинов во взрослом возрасте особенно актуально для расстройств депрессивного спектра ввиду отсутствия точного представления о механизмах развития этой группы заболеваний. Кроме того, актуальность изучения расстройств депрессивного спектра также обусловлена их социальной значимостью в виду широкой распространенности и ранним возрастом начала заболевания. По оценкам ВОЗ показатель DALY (годы жизни, скорректированные по нетрудоспособности) для расстройств депрессивного спектра за последнее десятилетие увеличился с 4.4% (по отчету ВОЗ за 2000 год) до 7.5% (по отчету ВОЗ за 2017 год). В настоящее время теория развития депрессии с наибольшей доказательной базой основана на дисфункции моноаминергических систем, и, соответственно, терапия включает ингибиторы обратного захвата серотонина, норадреналина, ингибиторы моноаминоксидазы. Тем не менее, проводимая терапия у 30% пациентов оказывается не эффективной, а устойчивой ремиссии не удается достичь в более чем 60% случаев (Oquendo *et al.*, 1999; O'Reardon, Brunswick and Amsterdam, 2000; Thase, Entsuah and Rudolph, 2001; Casacalenda, Perry and Looper, 2002; Smith *et al.*, 2002). В связи с этим представляется крайне актуальным выяснение точных механизмов депрессивных нарушений для разработки более эффективных методов лечения и поиска новых фармакологических мишеней лечения.

Научная новизна. В настоящей работе мы, во-первых, охарактеризовали модель депрессии на крысах после НПС, индуцированного инъекцией бактериального липополисахарида (ЛПС) в неонатальном периоде по уровням многих биохимических

показателей в сыворотке крови и отделах мозга. Впервые показали нарушение функционирования ГГНС и системы нейротрофинов после этого воздействия, что проявилось у этих животных во взрослом возрасте в повышении уровня кортикостерона в коре больших полушарий мозга (коре БП), а также в снижении уровня BDNF в крови и коре БП взрослых крыс после НПС. Во-вторых, мы впервые выявили ряд изменений, проявляющихся у крыс после НПС в ответ на дополнительный стрессор в виде поведенческих тестов. У крыс после НПС в возрасте 3 месяца на фоне появления тревожного и депрессивно-подобного поведения отсутствует индуцируемое субхроническим стрессом повышение содержания кортикостерона в сыворотке крови и коре БП, выявляемое в контрольной группе. Кроме того, мы показали, что в результате субхронического поведенческого стресса у крыс после НПС снижается содержание NGF в гиппокампе. Также были получены данные, указывающие на нарушения в функционировании системы провоспалительных цитокинов в мозге после стрессорного воздействия поведенческим тестированием на уровне экспрессии мРНК гена ИЛ-6. Кроме того, в рамках данной работы мы экспериментально показали большую чувствительность теста на предпочтение раствора сахарозы по сравнению с тестом вынужденного плавания для подтверждения депрессивно-подобного поведения у крыс.

В клинической части работы нашей основной задачей было смоделировать стрессорную реакцию у пациентов с тревожно-депрессивной симптоматикой (ТДС) и исследовать ее по показателям в крови, что впервые было сделано для различных стресс-реализующих систем одновременно. В рамках данной работы мы разработали стрессогенный тест, причем ключевым фактором для подбора задач была максимально слабая психо-эмоциональная нагрузка, при которой индуцируются эффекты стресса. Таким образом, предложенный нами стресс-тест можно применять для обследования пациентов с клинической депрессией, не опасаясь ухудшения их состояния. С использованием разработанного нами психо-эмоционального стресс-теста, мы показали, что из трех провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ-6, ИЛ-1 β) только уровень ИЛ-6 увеличивается после умеренного психо-эмоционального стресса в крови у пациентов с ТДС и у здоровых испытуемых. Мы впервые продемонстрировали большую чувствительность к психо-эмоциональному стрессу людей с ТДС по уровню глюкозы в крови в сравнении со здоровыми испытуемыми.

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая значимость экспериментальной части данной работы заключается в расширении современных представлений об отдаленном влиянии провоспалительной стрессорной индукции в раннем постнатальном периоде на формирование тревожного и депрессивно-подобного поведения во взрослом возрасте. Показаны вызванные НПС отдаленные нарушения в функционировании

ГГНС, систем провоспалительных цитокинов и нейротрофических факторов, сопряженные с тревожным и депрессивно-подобным поведением.

Практическая значимость работы заключается в разработке простого и применимого для пациентов с ТДС стрессорного теста. В настоящее время в лабораторных условиях чувствительность к стрессогенным воздействиям оценивают по изменению содержания кортизола в крови или слюне. Тем не менее, другим потенциально стресс-чувствительным показателем является содержание глюкозы в крови. Таким образом, мы показали валидность применения простого и доступного маркера чувствительности к стрессу у пациентов с ТДС, так как в условиях российских стационаров определение глюкозы в крови значительно более доступно, чем определение кортизола.

Положения, выносимые на защиту.

1. Неонатальный провоспалительный стресс вызывает появление тревожного и депрессивно-подобного поведения у взрослых крыс, которое сопровождается дисфункцией ГГНС и системы нейротрофических факторов, а также нарушением физиологической реакции на субхронический поведенческий стресс со стороны этих систем;
2. Тревожно-депрессивная симптоматика у людей сопровождается нарушением функционирования ГГНС и системы провоспалительных цитокинов, а также изменением реактивности в ответ на умеренный психо-эмоциональный стресс.
3. Общим для экспериментальной и клинической тревожно-депрессивной симптоматики является исходная дисфункция основной стресс-реализующей системы – ГГНС и, как следствие, нарушение физиологической реакции на стресс.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов определяется значительным и достаточным для статистического анализа числом наблюдений, использованием в работе современных молекулярно-биохимических методов анализа, применением адекватных методов статистического анализа.

Диссертация апробирована и рекомендована к защите на расширенном заседании лаборатории функциональной биохимии нервной системы, лаборатории условных рефлексов и физиологии эмоций и лаборатории молекулярной нейробиологии ФГБУН ИВНД и НФ РАН. Материалы диссертации были представлены на: на XIX и XX Школах-конференциях молодых ученых ИВНД и НФ РАН, Москва, (27–28.10.2015, 31.10 – 1.11.2016).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при

Министерстве образования и науки Российской Федерации и международных журналах, индексируемых в базе Web of Science/Scopus.

Личный вклад автора. Автор участвовала в разработке дизайна и протоколов исследования, постановке задач и обосновании выводов. Автор принимала участие в проведении поведенческого тестирования, подготовке биологического материала, анализе экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов в структурах мозга крыс, а также в сборе и заполнении клинических данных, проведении психо-эмоционального стресс-теста с испытуемыми клинической части работы. Самостоятельно был проведен биохимический и иммунохимический анализ структур мозга крыс, биохимический и иммунохимический анализ сыворотки крови. Самостоятельно проведены обработка и статистический анализ полученных данных.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 120 страницах машинописного текста, содержит 3 таблицы и иллюстрирована 30 рисунками. Диссертация состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты исследования, обсуждение результатов исследования, заключение и выводы, список сокращений, список литературы. Библиографический указатель содержит 9 отечественных и 293 зарубежных источников литературы.

2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Физиолого-биохимическая реализация стрессорного ответа

Реакция организма на острое стрессорное воздействие может значительно различаться в зависимости от типа воздействия (физиологический/психологический), эмоциональной окраски (дистресс/эустресс), а также от конкретных условий каждой ситуации. Тем не менее, при любом стрессе активируется множество физиологических и биохимических процессов, являющихся консервативными и мало зависящими от типа стрессора. Поэтому условно стрессорную реакцию организма можно разделить на две компоненты: 1) общие физиолого-биохимические механизмы стрессорной реакции, вовлекаемые в той или иной степени при всех вариантах стресса; 2) специфический стрессорный ответ на конкретную ситуацию (как физиологический, так и поведенческий). Сумма этих компонент дает адекватную стрессорную реакцию. При остром стрессе могут быть задействованы ГГНС, симпато-адреналовая система (САС), иммунная система и даже энтеральная часть автономной нервной системы (Foley and Kirschbaum, 2010; Ziegler, 2012; Marsland *et al.*, 2017) (Рисунок 1). Острый стресс воздействует также на работу ЦНС, например, влияет на систему вознаграждения в орбитофронтальной коре (Porcelli, Lewis and Delgado, 2012), через рецепторы кортикотропин-рилизинг фактора (CRFR) амигдалы влияет на формирование памяти в гиппокампе (Kim *et al.*, 2001). Ключевыми стресс-реализующими системами организма являются САС и ГГНС (Рисунок 1). Своевременная активация этих систем необходима для адекватного ответа и выживания организма в стрессорных условиях. Длительное воздействие стрессора может привести к аллостазу - «достижению стабильности через изменение» (Mc Ewen, 1998), при которой происходит адаптационное изменение функционирования стресс-реализующих систем, имеющее долговременные последствия. В норме в некоторых случаях острый стресс может иметь благоприятные последствия для организма в целом вследствие кратковременной активизации иммунной системы. Тем не менее, хронический стресс вызывает патологические нарушения в организме (de Kloet, Joëls and Holsboer, 2005a): вызывает депрессию (Checkley, 1992; Maria *et al.*, 2004; de Kloet, Joëls and Holsboer, 2005b; Hammen, 2005), метаболические нарушения

(Chrousos, 2000), патологии сердечно-сосудистой системы (Esler *et al.*, 2008), нарушения пищеварения (Mayer *et al.*, 2001), ухудшает прогноз при различных соматических заболеваниях (Maddock and Pariante, 2001). Кроме того, хронический стресс, нарушая работу стресс-реализующих систем, может влиять на стрессорную реакцию организма (Low, Salomon and Matthews, 2009; Chatkoff, Maier and Klein, 2010). В связи с чем для выявления патогенетических механизмов заболеваний, ассоциированных с хроническим стрессом, представляется особенно важным изучение реакции на острое стрессорное воздействие при данных патологиях. Механизмы стрессорного ответа (Рисунок 1) подробно изучены в экспериментальных моделях. Тем не менее, в настоящее время созрела необходимость трансляционного исследования этих механизмов для лучшего понимания патофизиологии стресс-ассоциированных заболеваний, для дальнейшего применения в клинической практике и разработке терапевтических методик и препаратов. Под термином трансляция здесь и далее мы понимаем перенос результатов, полученных в эксперименте, на человека.

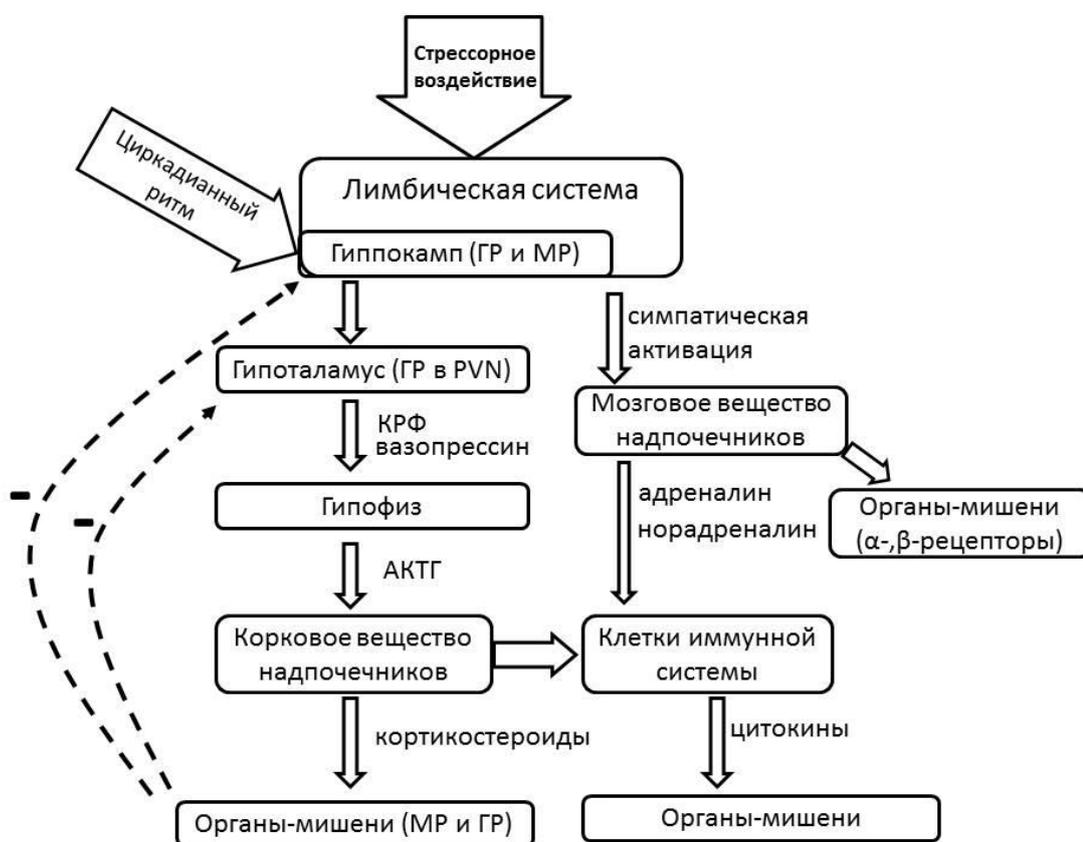


Рисунок 1. Схема вовлечения стресс-реализующих систем организма. Цепочка передачи стрессорного ответа в ГГНС следующая: кортикотропин-рилизинг фактор (CRF) активирует секреторное паравентрикулярное ядро (PVN) гипоталамуса, которое также иннервируется другими частями лимбической системы (амигдалой, ядрами среднего мозга). В гипоталамусе

CRF активизирует переднюю долю гипофиза, что вызывает увеличение секреции АКТГ. Под воздействием АКТГ в корковом веществе надпочечников возрастает секреция кортикостероидов, воздействующих на клетки-мишени через кортикоидные рецепторы. В стрессорном ответе также участвует вазопрессин, он может влиять на работу ГГНС, вовлечен в патогенез депрессивных нарушений (Scott and Dinan, 1998). Активация САС приводит к высвобождению катехоламинов адреналина и норадреналина из мозгового вещества надпочечников, действующих на клетки-мишени через адренорецепторы.

2.2 Симпато-адреналовая система

САС обеспечивает быстрый физиологический ответ на стрессорный стимул. Симпатические нервные волокна активируют мозговое вещество надпочечников, что приводит к секреции в кровь катехоламинов адреналина и норадреналина. Профили секреции адреналина и норадреналина после острого воздействия имеют разную амплитуду и динамику, зависят от характера стимула и психоэмоционального статуса испытуемого (Frankenhauser and Patkai, 1965; Mason, 1968). Результатом действия катехоламинов является усиление сердечной деятельности, расширение сосудов скелетных мышц, сужение сосудов внутренних органов, расширение бронхов, угнетение перистальтики желудочно-кишечного тракта, снижение секреции инсулина. Кроме того, катехоламины обладают метаболическими эффектами, направленными на повышение сиюминутных энергетических возможностей организма: гликогенолиз в печени и мышцах, глюконеогенез в печени, липолиз в печени и жировой ткани, результатом чего является увеличение концентрации глюкозы в циркулирующей крови.

По-видимому, САС не играет существенной роли в развитии депрессии, хотя есть данные, что адреналовый ответ на стрессорное воздействие эмоционального характера понижен у индивидуумов склонных к депрессии (Frankenhauser and Patkai, 1965; Ahrens *et al.*, 2008). Тем не менее, катехоламины участвуют в патогенезе депрессии в качестве нейромедиаторов ЦНС (см. ниже).

2.3 Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (ГГНС)

Реакция ГГНС на стрессорное воздействие более замедленная, чем САС, так как передача сигнала происходит по сложной нервно-гуморальной цепочке. Секреторное паравентрикулярное ядро гипоталамуса (PVN) имеет афферентные входы со стороны миндалины мозга, гиппокампа и ядер среднего мозга. Эндокринная активность ГГНС управляется посредством секреции паравентрикулярным ядром гипоталамуса кортикотропин-релизинг фактора (CRF) и вазопрессина. CRF и CRF-подобные пептиды (урокортины I, II, III) синтезируются также в других областях мозга и на периферии (в амигдале, стволе мозга, ядрах

парасимпатической нервной системы, желудочно-кишечном тракте, коже, надпочечниках, тестикулах, селезенке, тимусе, кардиомиоцитах), реагируя на специфические стрессорные стимулы (Bale and Vale, 2004). Гипоталамические гормоны CRF и вазопрессин стимулируют секрецию гипофизом адренокортикотропного гормона (АКТГ), который поступает в системный кровоток, связывается с рецепторами в коре надпочечников и увеличивает секрецию глюкокортикоидов. Основной глюкокортикоид человека – кортизол, крыс – кортикостерон. Функция глюкокортикоидов, как и катехоламинов, – мобилизация организма при остром стрессе. Глюкокортикоиды увеличивают концентрацию глюкозы в крови (за счет глюконеогенеза, подавления секреции инсулина и ингибирования захвата глюкозы из крови), усиливают расщепление триглицеридов, модулируют стимулирующее действие катехоламинов на кровеносные сосуды скелетных мышц, а также оказывают мощный противовоспалительный эффект (Buttgereit and Scheffold, 2002).

В ЦНС кортикоидные рецепторы есть в норадренергических, серотонинергических и дофаминергических структурах (Laaris *et al.*, 1995; Czyrak and Chocyk, 2001; Li, Han and Shi, 2011). Действие глюкокортикоидов опосредуется через рецепторы двух типов: I типа минералокортикоидные (MP) и II типа глюкокортикоидные (ГР) рецепторы. MP обладают большей чувствительностью к эндогенным глюкокортикоидам, от их активации в основном зависит физиологический эффект этих гормонов. ГР обладают низкой аффинностью и включаются в основном при стрессе, когда концентрация глюкокортикоидов высока (Watson and Mackin, 2006). Расположение этих рецепторов в мозге неоднородно. Наибольшее количество рецепторов кортикостероидов находится в гипоталамусе и гиппокампе – ключевых структурах, ответственных за нормальное функционирование ГГНС, в том числе за регуляцию по типу отрицательной обратной связи (Watson and Mackin, 2006; Dong *et al.*, 2009). Регуляция синтеза глюкокортикоидов опосредуется через механизм отрицательной обратной связи, который запускается при связывании глюкокортикоидов с ГР (главным образом) и MP в ЦНС. Основные механизмы отрицательной обратной связи осуществляются через снижение секреции CRF в паравентрикулярном ядре гипоталамуса и снижение синтеза проопиомеланокортина (предшественник АКТГ) в гипофизе (Bale and Vale, 2004).

Глюкокортикоиды обладают и периферическими, и центральными эффектами. К периферическим эффектам относятся регуляция метаболизма и влияние на иммунную систему. Хотя основным гормоном, регулирующим циркадианный ритм, считается мелатонин, кортизол также участвует в этом процессе: через этот гормон сигнал передается от «внутренних часов» в ЦНС в супрахиазматическом ядре гипоталамуса к периферическим тканям (Chan and Debono, 2010). В ЦНС глюкокортикоиды участвуют во многих значимых для организма процессах,

сопряженных со стрессорной реакцией. Глюкокортикоиды индуцируют реакцию страха, а также улучшают запоминание стрессорных событий (Maheu *et al.*, 2004). По-видимому, эти эффекты глюкокортикоидов опосредуются через амигдалу, так как повреждение базолатеральной амигдалы предотвращает их (Rooszendaal and J. L McGaugh, 1997), а инъекция кортикостероидов в амигдалу непосредственно перед стрессогенным событием снижает эффективность его запоминания (Rooszendaal and J L McGaugh, 1997). Глюкокортикоиды в присутствии серотонина могут снижать нейрогенез в зубчатой фасции гиппокампа, а хронически повышенный уровень кортизола сопровождается снижением объема гиппокампа и нарушения вербальной памяти у людей (Bremner *et al.*, 1995a). Учитывая приведенные выше данные, неудивительно, что многие психические заболевания сопровождаются нарушениями в работе ГГНС. В многочисленных исследованиях было показано, что у значительного количества пациентов с клинической депрессией повышен уровень кортизола в многих биологических жидкостях организма (Carroll, Curtis and J Mendels, 1976).

2.4 Система цитокинов

Система провоспалительных цитокинов. Провоспалительные цитокины – небольшие полипептидные молекулы, участвующие в аутокринной, паракринной и эндокринной передаче сигнала. Провоспалительные цитокины продуцируются клетками иммунной системы не только в ответ на периферическую инфекцию, но и в ответ на стрессоры других модальностей – через рецепторы кортикостероидов и адренорецепторы (Nguyen *et al.*, 1998; Glaser and Kiecolt-Glaser, 2005). Провоспалительные цитокины обеспечивают локальный и системный (неспецифический) воспалительные ответы. Неспецифический ответ организма на инфекцию включает физиологические (повышение температуры тела), психологические и изменения поведения, так называемая поведенческая реакция на болезнь (sickness behavior), призванная облегчить и ускорить процесс борьбы с инфекцией (Hart, 1988). Как правило, эта реакция проявляется в сонливости, увеличении доли медленного сна, апатии, снижении потребления пищи и воды, отторжении от социума, пониженном настроении. Кроме того, появляются когнитивные нарушения - неспособность к концентрации внимания, нарушения обучения и пространственной памяти. Несложно заметить, что все эти нарушения в той или иной степени выражены при депрессии. Ключевую роль в реализации этих поведенческих изменений играют провоспалительные цитокины, действующие на периферии или попадающие в ЦНС (Dantzer, 2001; Raison, Capuron and Miller, 2006). Провоспалительные цитокины секретируются в ответ на инфекцию моноцитами крови и макрофагами периферических тканей организма. Есть три варианта влияния периферических цитокинов на ЦНС. 1) При активации афферентных волокон

вегетативной нервной системы: при абдоминально-висцеральных и оро-лингвальных инфекциях цитокины воздействуют на окончания блуждающего и тройничного нервов (Watkins *et al.*, 1994; Romeo *et al.*, 2001). 2) При антигенной стимуляции провоспалительные цитокины секретируются эндотелиальными клетками циркумвентрикулярной системы. Детектировали повышенную секрецию мРНК ИЛ-1 β в сосудистом сплетении терминальной пластинки (*organum vasculosum laminae terminalis*), субфорникальном органе (*organum subfornicum*), самом заднем поле (*area postrema*), срединном возвышении (*eminentia mediana*) через 0.5-8 часов после внутрибрюшинного введения провоспалительного агента крысам (Quan, Whiteside and Herkenham, 1998). Полагают, что в этих участках гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) более проницаем, и прошедшие через ГЭБ провоспалительные цитокины вызывают провоспалительную индукцию вызывают активацию иммунной системы мозга: через 8-24 после введения часа секретирующие ИЛ-1 β клетки были обнаружены у этих крыс в паренхиме мозга (Quan, Whiteside and Herkenham, 1998). *In vitro* на однослойной культуре эндотелиальных клеток мыши было показано, что при провоспалительной стимуляции эндотелиальных клеток ГЭБ со стороны люминальной мембраны происходит секреция провоспалительных цитокинов со стороны аблюминальной мембраны (Verma *et al.*, 2006; Banks, 2009). 3) Кроме того, в крови циркулируют специальные транспортеры, обеспечивающие транспорт провоспалительных цитокинов через ГЭБ (Pan and Kastin, 2002; Banks, 2009). Все эти механизмы активируют микроглиальные клетки, запуская секрецию провоспалительных цитокинов внутри головного мозга и усиливая проявления «поведенческой реакции на болезнь» (Dantzer, 2001).

Основные провоспалительные цитокины – интерлейкины 1 α и β (ИЛ-1 α и ИЛ-1 β), интерлейкин 6 (ИЛ-6), и фактор некроза опухолей- α (ФНО- α). Мембранные рецепторы ИЛ-1 типа I (IL-1RI) обнаружены в эндотелии мозговых вен передней доли гипофиза, зубчатой фасции и пирамидном слое, гипоталамусе, коре, продолговатом мозге (Parnet *et al.*, 2002; Kongsman *et al.*, 2004). Нейронная локализация этих рецепторов обнаружена только в отдельных группах клеток гиппокампа и гипоталамуса (French *et al.*, 1999). Рецепторы ИЛ-6 также широко распространены в мозге. Нейронная и глиальная локализация рецепторов ИЛ-6 обнаружена в гиппокампе (поля CA1-CA4 и зубчатая фасция), в гипоталамусе, дорсомедиальном и вентромедиальном гипоталамусе, внутренней капсуле (*capsula interna*), зрительном тракте (Schobitz, Voorhuis and Kloet, 1992). Рецепторы ФНО- α распространены во многих структурах мозга, равномерно в глиальных и нервных клетках (Botchkina *et al.*, 1997; McCoy and Tansey, 2008). Некоторые исследователи считают, что конститутивно экспрессируемые цитокины нервных и глиальных клеток участвуют в процессах нейропластичности, а в воспалительном ответе участвуют цитокины, выделяющиеся после дополнительной индукции глиальных клеток

(Laye *et al.*, 1994). ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α индуцируют синтез циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), участвующей в синтезе простагландинов (De Vries *et al.*, 1995; Cao *et al.*, 1996). Далее небольшие липофильные молекулы простагландинов проникают в паренхиму мозга, где связываются с рецепторами. Наибольшая плотность рецепторов простагландинов в мозге обнаружена в гипоталамусе, таламусе и лимбической системе, локализованы они главным образом на телах и отростках нервных клеток (Watanabe *et al.*, 1989; Matsumura *et al.*, 1992). Простагландины D₂, E₂ и F_{2 α} модулируют многие физиологические процессы (сон, обоняние, секрецию лютеинизирующего гормона, восприятие боли, гипо- и гипертермии) (Watanabe *et al.*, 1989). Кроме того, простагландины могут модулировать действие нейромедиаторов (Wolfe, 1982; Watanabe, Watanabe and Hayaishi, 1988).

В работах по моделированию эффектов цитокинов часто используют эндотоксин бактериальный липополисахарид (ЛПС). С помощью экспериментальных моделей показано, что ЛПС даже в дозах, не вызывающих сепсис, вызывает системные воспалительные реакции и нейровоспаление в организме, сопровождающееся резким увеличением уровня провоспалительных цитокинов (Breder *et al.*, 1994; Quan, Whiteside and Herkenham, 1998). Инъекция провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) или ЛПС обладает провоспалительным и пирогенным эффектами, а также индуцирует изменения на поведенческом уровне: снижение локомоторной и исследовательской активности, снижение аппетита и потребления жидкости, повышенная утомляемость, и когнитивные нарушения, ассоциированные с гиппокампом (обучение и пространственная память) (Dantzer, 2001; Carmichael *et al.*, 2006; Sparkman *et al.*, 2006). Провоспалительные цитокины обладают специфичностью действия. После инъекции ЛПС профили индукции мРНК для цитокинов ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α различаются в структурах мозга мышей (Dantzer, 2001; Sparkman *et al.*, 2006). У мышей с полным нокаутом гена ИЛ-6 (ИЛ6^{-/-}) после инъекции ЛПС отсутствовали когнитивные нарушения, при этом поведенческие нарушения (sickness behavior) вызванные ЛПС были сопоставимы с нарушениями у мышей дикого типа. По-видимому, отсутствие влияния ЛПС на память и обучение связано с нечувствительностью структур мозга к ЛПС в отсутствие ИЛ-6. Кроме того, у мышей ИЛ6^{-/-} после введения ЛПС содержание ИЛ-1 β и ФНО α возросло только в периферической крови, а содержание этих цитокинов в мозге практически не увеличилось. То есть, по-видимому, ИЛ-6 ответствен за передачу воспалительного сигнала в мозг и когнитивные нарушения, а ИЛ-1 β и ФНО- α – за поведенческие изменения, соответствующие болезненному статусу организма (Sparkman *et al.*, 2006).

Система противовоспалительных цитокинов. Противовоспалительные цитокины ослабляют провоспалительную реакцию. С помощью экспериментальных моделей показано,

что экзогенный интерлейкин 10 (ИЛ-10) нивелирует поведенческие и когнитивные нарушения, вызванные инъекцией ЛПС (Bluthé *et al.*, 1999). По-видимому, ИЛ-10 снижает активность системы провоспалительных цитокинов и увеличивает активность системы противовоспалительных цитокинов. Есть данные, что ИЛ-10 снижает экспрессию рецептора ИЛ-1 типа I и увеличивает экспрессию рецептора ИЛ-1 типа II, являющегося рецептором-ловушкой для молекул ИЛ-1, а также стимулирует синтез антагониста рецептора ИЛ-1 – ИЛ-1ra (Bluthé *et al.*, 1999). На культурах клеток показано, что ИЛ-10 влияет на активность провоспалительного цитокина ИЛ-6. Предварительная обработка клеток раствором цитокина ИЛ-10 снижала продукцию ИЛ-6 микроглиальными клетками, обработанными раствором ЛПС. Причем в этом случае ИЛ-10 действовал через транскрипционный фактор NF-κB необходимый для транскрипции гена ИЛ-6, ингибируя его активацию (Heyen *et al.*, 2000). Другие противовоспалительные цитокины обладают сходными эффектами. Например, инъекция инсулиноподобного фактора роста -1 (IGF-1) ингибирует у мышей поведенческие и когнитивные эффекты ЛПС (Dantzer *et al.*, 1999).

2.5 Система нейротрофических факторов

Еще одна система, на функциональный уровень которой оказывает влияние стресс, и которая одновременно с этим является ключевой для нормальной работы и созревания ЦНС, – система нейротрофических факторов. Нейротрофины – класс ростовых факторов, чья активность приходится главным образом на клетки центральной и периферической нервной системы. В формирующейся нервной системе нейротрофины участвуют в процессах созревания и специализации нейронов и формирования связей. Клетки тканей-мишеней секретируют нейротрофины, что побуждает отростки иннервирующих клеток расти в их сторону. Растущие отростки нервных клеток захватывают молекулы нейротрофинов из межклеточного пространства с помощью эндоцитоза, далее транспортируют образовавшиеся везикулы в соматические клетки. В зрелом организме нейротрофины поддерживают функционирование нейронов, обеспечивают нейропластичность и нейрогенез, многие нейроны становятся независимы от тканей-мишеней за счет аутокринной и паракринной секреции нейротрофинов. Во взрослом организме нейротрофины могут выполнять функции модуляции нейротрансмиссии (Jarvis *et al.*, 1997; Kerr *et al.*, 1999; Schinder and Poo, 2000; Tucker and Fadool, 2002; Lu, 2003). У млекопитающих описаны 4 представителя семейства нейротрофических факторов: BDNF, NGF, нейротрофин 3 (NT-3), нейротрофин 4/5 (NT4/5). Действие нейротрофинов опосредуется через специфические рецепторы семейства тирозинкиназ (Trk): TrkA для NGF, TrkB для BDNF и NT4/5, TrkC для NT-3. Специфичность действия нейротрофинов на разные клеточные

субпопуляции определяется выраженностью экспрессии разных типов Trk рецепторов. Кроме того, все нейротрофины с одинаковой низкой аффинностью связываются с неспецифическим рецептором p75 (Jarvis *et al.*, 1997; Tucker and Fadool, 2002; Lu, 2003), через который как правило опосредуется нейротоксическое действие нейротрофинов, и только в отдельных случаях может осуществляться нейропротекция (Yamashita, Tucker and Barde, 1999).

NT-3 самый широко распространенный и наиболее рано включающийся в эмбриональном развитии нейротрофин. Он необходим для поддержания клеток нервного гребня, для формирования проприорецепторных клеток сенсорных ганглиев, повсеместно распространен в ЦНС, стимулирует пролиферацию предшественников олигодендроцитов. Действие NT4/5 во многом перекрывается действием других нейротрофинов. Этот нейротрофин участвует в формировании периферических нейронов - сенсорных и мотонейронов (Mendell, Johnson and Munson, 1999). Основная роль NGF – обеспечение поддержания и выживания симпатических и сенсорных нейронов во время созревания периферической нервной системы. Сенсорные нейроны нуждаются в постоянном присутствии этого фактора также во взрослом организме. Так как NGF необходим для функционирования болевых рецепторов, увеличение его концентрации в периферических тканях ведет к увеличению болевой чувствительности и может вызвать гипералгезию (Malik-Hall, Dina and Levine, 2005). Хотя было показано, что эмоциональный стресс вызывает увеличение концентрации NGF в крови (Aloe *et al.*, 1994), роль NGF в центральной нервной системе незначительна. Он синтезируется только в гиппокампе и неокортексе, куда идут отростки TrkA-положительных холинергических нейронов базальных ядер переднего мозга. Во время созревания нервной системы BDNF обеспечивает формирование парасимпатических и сенсорных нейронов ПНС. Кроме того, BDNF широко распространен в ЦНС, где он является ключевым фактором, обеспечивающим нейропластичность. Он необходим для формирования ядер переднего мозга, стриатума, нейронов ганглионарного слоя сетчатки и некоторых мотонейронов (Siegel *et al.*, 2006). Наибольший уровень экспрессии BDNF в ЦНС приходится на кору БП и гиппокамп (Schmidt-Kastner, Wetmore and Olson, 1996; Conner *et al.*, 1997). Этот нейротрофин играет ключевую роль в развитии, выживании, поддержании пластичности нейронов ЦНС, ремоделировании дендритов (Lewin, 1996; McAllister, Katz and Lo, 1997). BDNF выполняет в мозге не только трофическую функцию, но также модулирует работу нейронов, опосредуя эффекты стресса. Было показано, что BDNF является ключевым фактором, реализующим поведенческие нарушения при моделировании социальных взаимодействий: поведенческие нарушения у крыс, подвергнутых агрессии со стороны соплеменников, не развивались при избирательной блокаде BDNF в дофаминергических нейронах мезолимбической системы мозга (Berton *et*

al., 2006). При стрессе и механических повреждениях содержание BDNF в крови резко повышается, быстрая реакция обеспечивается главным образом за счет депонированной в тромбоцитах фракции этого фактора. Длительное снижение содержания нейротрофинов NT-3, BDNF, NGF, а также их рецепторов в мозге, преимущественно в гиппокампе, сопровождается нарушением гиппокамп-ассоциированной контекстуальной памяти (Ueyama *et al.*, 1997).

2.6 Расстройства депрессивного спектра

Психические расстройства оказывают значительную экономическую и социальную нагрузку на общество в связи с высокой распространенностью, ранним возрастом возникновения и большой вероятностью хронизации. Один из вариантов аффективного расстройства психики – группа расстройств депрессивного спектра. Расстройства депрессивного спектра – одна из наиболее часто диагностируемых в современном мире групп заболеваний, а также одна из наиболее быстро прогрессирующих в масштабах общества. По оценкам ВОЗ показатель DALY (годы жизни, скорректированные по нетрудоспособности) для расстройств депрессивного спектра за последнее десятилетие увеличился с 4.4% (по отчету ВОЗ за 2000 год) до 7.5% (по отчету ВОЗ за 2017 год) (Üstün *et al.*, 2004; Sandmire, Austin and Bechtel, 2017). У пациентов зачастую сосуществуют депрессивная, тревожная, обсессивно-компульсивная, ипохондрическая и соматоморфная симптоматика (Галямина и др., 2016). Для облегчения рассмотрения всех этих симптомов в рамках одной нозологической единицы в русской психиатрии применяют синдромологический принцип постановки диагноза: депрессивный синдром наблюдают при монополярной (большой) депрессии, биполярном расстройстве, при шизофрении, нейродегенеративных и соматических заболеваниях, а также как побочный эффект терапии (Абрамец и др., 2019). В западной литературе принято понятие «расстройства депрессивного спектра», включающее весь широкий спектр тревожно-депрессивных состояний. Граница между различными психическими расстройствами зачастую нечеткая. Есть данные, что тревожная и депрессивная симптоматика сосуществуют у большинства пациентов: психический статус пациентов может соответствовать одновременно разным диагнозам, либо диагнозы могут проявляться по очереди с небольшим временным интервалом (Hecht, Zerssen and Wittchen, 1990; Lenzé *et al.*, 2000). В отечественной медицине имеет место термин «тревожная депрессия», используемый для выраженной смешанной тревожно-депрессивной симптоматики (Узбеков и Максимова, 2015). Согласно международной классификации МКБ-10 у страдающих депрессией людей отмечаются пониженные настроение и активность, нарушается способность получать удовольствие, интересоваться и сосредотачиваться. Нарушен сон и аппетит, снижена самооценка, присутствуют хроническая

усталость, повышенная тревожность и мысли о собственной виновности и бесполезности, появляются фобии, панические атаки, навязчивые мысли и повторяющиеся вынужденные действия, ошибки самоконтроля, суицидальные мысли и психосоматические симптомы (<http://mkb-10.com>). Очевидно, что депрессия приводит к значительному ухудшению качества жизни, проблемам в социализации, потере работоспособности. Кроме того, дети, родители которых страдали депрессией, имеют увеличенный риск возникновения заболевания, причем заболевание чаще проходит в тяжелой форме и начинается в более раннем возрасте (Weissman *et al.*, 1997a). Женщины страдают тревожно-депрессивной симптоматикой в два раза чаще мужчин. Например, большое депрессивное расстройство встречается у женщин и мужчин в 17-21% и 9-12%, соответственно (Nolen-Hoeksema, 2001; Alonso *et al.*, 2004). Гендерные различия частоты депрессии начинаются в пубертатном периоде и длятся до периода менопаузы. Возможно это связано с ингибирующим эффектом эстрогенов на иммунную систему (Smith, 1991; М.М., Weissman and Olfson, 1995). Тревожно-депрессивная симптоматика зачастую коморбидна с соматическими нарушениями, что усугубляет общую картину заболевания. Вариантов сочетания психической и соматической симптоматики несколько: депрессия может имитировать соматическое заболевание, депрессивные симптомы могут возникать в результате ухудшения клинической «картины» пациента, либо указывать на скрытое соматическое заболевание. Кроме того, депрессия и соматические заболевания могут возникать независимо в результате функциональных нарушений в организме (Schulberg and McClelland, 1987). Тем не менее, есть данные, что при сочетанном протекании соматического и психического заболевания, они усиливают друг друга, осложняют протекание лечения и ухудшают прогноз (Aneshensel, Frerichs and Huba, 1984). Возможно это происходит вследствие комплексного усиления стрессорной нагрузки на организм. Причем соматическое заболевание может быть как независимым стрессирующим фактором, так и вызывать болезненное осознание своего положения, являясь аналогом хронического психо-эмоционального стресса. Многие исследователи отмечают взаимосвязь тревожно-депрессивной симптоматики и предшествующего ей хронического стрессорного воздействия и/или острого стресса значительной силы (Hammen, 2005), возможные механизмы этого будут рассмотрены далее.

Есть несколько актуальных проблем, с которыми сталкиваются практикующие врачи при диагностике и терапии депрессивных нарушений. Одна из них – недостаток объективных критериев для постановки диагноза. Диагностика аффективных расстройств проводится с помощью психологических шкал, например, шкалы депрессии Бека, шкалы Гамильтона, шкалы тревоги Спилбергера. Данные шкалы разработаны для диагностики тревожно-депрессивных нарушений и применяются повсеместно. Тем не менее, подобная диагностика во многом

субъективна, и не всем пациентам ставят адекватный диагноз и направляют на специализированное лечение. В настоящее время в качестве биологического теста на депрессивное расстройство успешно используется дексаметазоновый тест (ДМТ) и различные его модификации (Extein, Pottash and Gold, 1981; Carroll, 1982; Heuser, Yassouridis and Holsboer, 1994; Heuser *et al.*, 1996; Heim *et al.*, 2008). Несмотря на широкое распространение и активное использование ДМТ, чувствительность этого теста 45-70%, то есть много ложноотрицательных результатов. В 80-е годы был предложен тиреотропный тест для выявления депрессивного расстройства, тем не менее он не нашел активного применения в клинической практике в связи со сложностью реализации и неоднозначностью результатов (Extein, Pottash and Gold, 1981). В связи с этим выявление новых биохимических маркеров психических нарушений, на которые может полагаться психиатр при постановке, уточнении диагноза и отслеживании процесса лечения является актуальной задачей современной науки. Введение в медицинскую практику таких маркеров облегчит диагностику, сделает ее более объективной и позволит оценить эффективность терапевтических подходов. Еще одна актуальная проблема современной психиатрии – незнание точных биологических механизмов, вызывающих психические нарушения. И, соответственно, невозможность во многих случаях подобрать индивидуальную терапию этого комплексного заболевания. Стандартные назначения при депрессии включают ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОС), ингибиторы обратного захвата норадреналина (трициклические антидепрессанты), ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО). Несмотря на широкое разнообразие антидепрессантов и активную разработку новых лекарств, проводимая терапия у 30% пациентов оказывается не эффективной, а устойчивой ремиссии не удается достичь в более чем 60% случаев (Oquendo *et al.*, 1999; O'Reardon, Brunswick and Amsterdam, 2000; Thase, Entsuah and Rudolph, 2001; Casacalenda, Perry and Looper, 2002; Smith *et al.*, 2002). В то же время остаточные симптомы депрессии – предиктор раннего рецидива депрессии. Вероятность возникновения рецидива в течение 6-12 месяцев в 3-6 раз выше у пациентов с остаточными депрессивными симптомами по сравнению с пациентами с полной ремиссией (Thase *et al.*, 1992; Paykel *et al.*, 1995; Paykel, 2002). В связи с этим представляется крайне актуальным выяснение точных механизмов депрессивных нарушений для разработки более эффективных методов лечения и поиска новых фармакологических мишеней лечения.

2.7 Депрессия: теории патогенеза

Понимание патогенеза психических расстройств стремительно развивается. Одна теория не может охватить все клинические и экспериментальные данные, объяснить комплексное действие антидепрессантов и обосновать все физиологические, когнитивные и поведенческие

нарушения, выявляемые при депрессии. В настоящий момент существует несколько дополняющих друг друга теорий патогенеза этого комплексного заболевания.

Нарушения в системе нейромедиаторов (моноаминовая теория). В самых ранних работах, посвященных индивидуальным различиям в работе стресс-реализующих систем, было показано, что у людей, склонных к депрессии, ответ на стресс по уровню адреналина в моче значительно снижен по сравнению с группой контроля (Frankenhauser and Patkai, 1965). В 60-70-х годах была сформулирована теория, согласно которой депрессия возникает при дисфункции в мозге серотонина и норадреналина (Mason, 1968; Coppen, 1971). Позже было показано, что дисфункция дофамина также причастна к развитию депрессии (Деркач, Романова и Шпаков, 2016; Rapp *et al.*, 2017). Классические антидепрессанты направлены на пролонгирование действия моноаминов в синаптической щели: с помощью ингибирования обратного захвата серотонина, норадреналина и дофамина или путем ингибирования моноаминоксидазы - фермента, расщепляющего биогенные амины после высвобождения в синапсе.

При депрессивной симптоматике выражено как снижение позитивных аффектов (радость, интерес, уверенность в себе), так и усиление негативных (беспокойство, раздражительность, чувство вины). Есть данные, что антидепрессанты обладают специфичностью действия в отношении этих симптомов. Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС) обладают более выраженным анксиолитическим действием (снимают усиление негативных аспектов), а ингибиторы обратного захвата норадреналина (СИОЗН) и дофамина – стимулирующим (усиливают позитивные аффекты) (Nutt *et al.*, 2007). Возможно, вклад дисфункции каждого из моноаминов в каждом конкретном клиническом случае определяет симптоматику конкретного человека.

Дисфункция ГГНС. Клинические исследования показывают, что депрессия, как правило, ассоциирована с гиперактивностью ГГНС. У пациентов с депрессией наблюдали повышенное содержание кортизола в крови (Sachar *et al.*, 1973), моче (Carroll *et al.*, 1976), спинномозговой жидкости (Taskman *et al.*, 1980), а также в слюне в ответ на пробуждение или стресс. Кроме того, у пациентов с депрессией отмечается увеличенный размер гипофиза (Krishnah *et al.*, 1991) и надпочечников (Rubin *et al.*, 1995) снижение объема гиппокампа (Bremner *et al.*, 1995b), а также нарушена регуляция по принципу отрицательной обратной связи на гипоталамо-гипофизарном уровне (Jacobson and Sapolsky, 1991a; Pariante and Miller, 2001). Глюкокортикоиды используют для моделирования депрессивно-подобного поведения: хроническое экзогенное введение кортикостерона крысам вызывает снижение потребления

раствора сахарозы в тесте на наличие ангедонии и увеличение времени зависания в воде в тесте вынужденного плавания (Huang *et al.*, 2011).

Дисфункция ГГНС – это в первую очередь фактор риска, увеличивающий вероятность развития психопатологии, а не следствие уже существующей депрессии. Дисфункция ГГНС отражает наличие нейробиологических аномалий в функционировании основных систем организма, которые и предрасполагают к развитию психопатологии. Одно из проявлений дисфункции ГГНС – нарушение механизмов саморегуляции (отрицательной обратной связи). Отрицательная обратная связь опосредуется через низкоаффинные ГР рецепторы паравентрикулярного ядра гипоталамуса, гиппокамп, префронтальную кору (Reul and De Kloet, 1985; Jacobson and Sapolsky, 1991b). Причиной нарушения нормального функционирования системы отрицательной обратной связи в ГГНС может стать хронический стресс, при этом данные нарушения у грызунов сопровождаются проявлениями депрессивно-подобного поведения. Для получения устойчивых нарушений работы ГГНС у крыс с помощью хронического стрессорного воздействия (ХНС), необходимо подвергать их ХНС в течение как минимум 3 недель (Dhabhar and Mcewen, 1997). Такой вариант хронического стрессорного воздействия вызывает снижение количества ГР в цитозольной фракции префронтальной коры (Mizoguchi *et al.*, 2003), снижение количеств МР и ГР (по уровню экспрессии мРНК или белка) в полях СА1 и СА3 и зубчатой фасции гиппокампа (Meyer *et al.*, 2001; Zhe, Fang and Yuxiu, 2008). В клинической практике для диагностики депрессивных нарушений широко распространен «дексаметазоновый тест», выявляющий нарушение работы системы отрицательной обратной связи в ГГНС (Carroll, Curtis and Joseph Mendels, 1976). Дексаметазон – синтетический агонист кортикостероидных рецепторов, селективно связывающийся с ГР. Дексаметазон проходит через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) и связывается с высокочувствительными к нему ГР в гипоталамусе, что в норме вызывает торможение секреции CRF и АКТГ по механизму отрицательной обратной связи. Соответственно, организм здорового человека реагирует на экзогенный прием небольшого количества дексаметазона быстрым снижением секреции кортизола. Так как у многих пациентов с клинической депрессией механизм обратной связи нарушен, введение дексаметазона таким пациентам не приводит к изменению активности ГГНС (Carroll, 1982). Для более точного результата используется двойной тест, комбинирующий дексаметазоновый тест подавления секреции и CRF-тест активации секреции АКТГ (Heuser, Yassouridis and Holsboer, 1994; Heuser *et al.*, 1996). Нарушение механизма отрицательной обратной связи в регуляции активности ГГНС связывают в первую очередь с дефектной работой системы ГР (Шишкина, Дыгало, 2016), так как ГР включаются только при высоких концентрациях глюкокортикоидов. Это подтверждается

клиническими данными: с помощью антидепрессантной терапии, направленной на нормализацию работы системы ГР, можно добиться устойчивой ремиссии (Heuser *et al.*, 1996). В патогенезе депрессии может быть задействована также дисрегуляция системы CRF и его рецепторов CRFR1 и CRFR2. Мыши, дефицитные по гену CRFR2, демонстрируют тревожное поведение и повышенный ответ на стресс. Дефицит CRFR2 приводит к «поведению отчаяния» в тесте вынужденного плавания, при этом введение антагониста CRFR1 вызывает улучшение (Bale and Vale, 2003).

Дисфункция системы провоспалительных цитокинов. Как написано выше, периферические провоспалительные цитокины вызывают активацию микроглиальных клеток. Продукция провоспалительных цитокинов в мозге вызывает усиление поведенческих и когнитивных нарушений. Проявления инфекционной болезни, инъекции ЛПС или цитокинов очень похожи на депрессивную симптоматику: социальное отторжение, нарушения сна и аппетита, апатия и ангедония могут быть симптомами любого из этих состояний (Konsman, Parnet and Dantzer, 2002; Dantzer, 2006). Помимо этого, антидепрессанты снижают часть симптомов, вызванных инъекцией цитокинов или ЛПС (Dantzer, 2001), что также указывает на сходную этимологию провоспалительных симптомов и симптомов депрессии. Соответственно, продолжающаяся длительное время провоспалительная стимуляция может вызвать стабильную депрессивную симптоматику. Поэтому соматические заболевания, сопровождающиеся воспалением, увеличивают риск развития депрессии (Aneshensel, Frerichs and Huba, 1984; Schulberg and McClelland, 1987; Evans *et al.*, 2005; Raison, Capuron and Miller, 2006). Так как стресс вызывает увеличение концентрации провоспалительных цитокинов крови (Steptoe *et al.*, 2001; Brydon *et al.*, 2004), все вышеперечисленные последствия воспаления относятся также и к нему.

Цитокиновая теория развития депрессии впервые была сформулирована в 1991 году Рональдом Смитом (Smith, 1991), который отметил связь между соматическими заболеваниями с повышенной активностью иммунной системы (ревматоидный артрит, сердечно-сосудистые заболевания, травмы и хирургические вмешательства) и клинической депрессией. Ведущую роль в развитии депрессии он отдал макрофагам, секретирующим провоспалительные цитокины. Существуют протоколы лечения некоторых тяжелых соматических заболеваний с использованием провоспалительных цитокинов. На когортах таких пациентов показано, что при приеме препаратов интерферона- α (McDonald, Mann and Thomas, 1987; Niiranen *et al.*, 1988) и ФНО- α (Spriggs *et al.*, 1988) у ранее психически и неврологически здоровых людей развиваются симптомы депрессии (апатия, психомоторная заторможенность, гиперсомния, анорексия, спутанность сознания и неспособность к концентрации).

Дисфункция системы нейротрофинов. BDNF вовлечен в патогенез различных нейродегенеративных и психических заболеваний: болезнь Альцгеймера (Durany *et al.*, 2000), шизофрению (Shoval and Weizman, 2005), эпилепсию (Schmidt-Kastner, Wetmore and Olson, 1996), депрессию (Brunoni, Lopes and Fregni, 2008). Клинические исследования показывают, что у пациентов с депрессией снижен уровень BDNF в крови, а антидепрессантная терапия поднимает уровень этого нейротрофина (Shimizu *et al.*, 2003; Brunoni, Lopes and Fregni, 2008). Снижение уровня этого фактора в различных структурах мозга продемонстрировано также в экспериментальных моделях депрессии (Angelucci *et al.*, 2000). При экспериментальной депрессии инъекция BDNF в мозг оказывает антидепрессантный эффект (Siuciak *et al.*, 1997). Эндогенный BDNF не обладает достаточным протекторным эффектом против стресса: мыши дикого типа (*bdnf* +/+) и мыши с частично заблокированным геном BDNF (*bdnf* +/-) в равной мере демонстрировали депрессивно-подобное поведение в модели хронического непредсказуемого стресса. Однако, эндогенный BDNF необходим для эффективного действия антидепрессантов: позитивный эффект антидепрессантов по многим показателям выявили только у мышей дикого типа (Ibarguen-vargas *et al.*, 2009). То есть, снижение уровня BDNF не вызывает депрессивно-подобного поведения в отсутствие дополнительных факторов, не снижает чувствительность к стрессу, но усиливает действие антидепрессантов.

BDNF – важный нейротрофический фактор, необходимый для выживания нейронов во взрослом организме. При снижении содержания BDNF в мозге происходит снижение числа дендритов, дегенерация нейронов (Watanabe, Gould and McEwen, 1992), что, по-видимому, является одной из составных частей патогенеза заболевания. Результатом является дистрофия гиппокампа, которая наблюдается у людей с выраженной депрессией (Sheline *et al.*, 1996). Считается, что снижение содержания BDNF обусловлено двумя факторами: повышенной концентрацией глюкокортикоидов и сниженной иннервацией от серотонинергических нейронов (Vaidya, Terwilliger and Duman, 1999; Murakami *et al.*, 2005). Кроме того, есть данные, что нарушения нейрогенеза ассоциированы с психическими заболеваниями, в том числе депрессией (Jacobs, van Praag and Gage, 2000; Eisch and Petrik, 2012). Во взрослом организме нейрогенез в норме происходит в гиппокампе и обонятельных луковицах (у грызунов). Для выживания и дифференцировки новообразованных нейронов ключевым фактором является нейротрофический фактор BDNF (Scharfman *et al.*, 2005; Rossi *et al.*, 2006).

В настоящее время широко распространена сравнительно недавно сформулированная *нейропластическая теория*, согласно которой, формирование психо-эмоционального состояния не определяется уровнем отдельных нейромедиаторов, но формируется в результате совокупной деятельности различных отделов мозга. Деятельность каждого из отделов мозга, а

также их взаимодействие определяется функциональным состоянием нервных клеток, долговременной потенциацией и синаптической пластичностью. На все эти факторы оказывают влияние трофические процессы нервной ткани, нарушающиеся при воспалении, а также биохимические системы, поддерживающие многие важные процессы в нервных и глиальных клетках. Таким образом, согласно этой теории, возможными активными участниками в патогенезе депрессии становятся нейровоспаление, запускающее нейротоксические процессы, и дефицит нейротрофических факторов, обеспечивающих долговременную потенциацию и нейропластичность. Некоторые ученые считают, что антидепрессанты не влияют напрямую на психо-эмоциональный статус пациентов, а действуют опосредованно - через активацию системы нейротрофинов и подавление продукции провоспалительных интерлейкинов восстанавливают нормальную работу лимбической системы и префронтальной коры (Harmer, Goodwin and Cowen, 2009). Данная теория была выдвинута для объяснения накопительного эффекта приема антидепрессантов.

2.8 Генетическое и аллостатическое программирование

Причины всех вышеописанных нарушений могут быть генетические либо вызваны воздействием среды, вызывающим стресс. Участие стресса в развитии депрессии убедительно показано в клинических исследованиях и модельных экспериментах (Maria *et al.*, 2004; de Kloet, Joëls and Holsboer, 2005b; Hammen, 2005). Установлена связь нарушения работы ГГНС и эмоционально-когнитивных нарушений психики, характерных для депрессии (Sachar *et al.*, 1973; Jacobson and Sapolsky, 1991b; Heim *et al.*, 2008; Sominisky *et al.*, 2013): острое или хроническое стрессорное воздействие может служить триггером для начала заболевания в следствие гиперактивации, нарушения регуляции по типу обратной связи и выхода из строя основных стресс-реализующих систем (Jacobson and Sapolsky, 1991b; Watson and Mackin, 2006). Однако, есть предположение, указывающее на обратную последовательность возникновения этой группы заболеваний. Нарушенная стрессорная реакция может быть причиной неадекватной реакции на ежедневный бытовой стресс. То есть большая восприимчивость к стрессу, болезненное переживание каждого события по сути и являются аналогом хронического стресса. Следовательно, нарушенная стрессорная реакция может служить причиной возникновения депрессивных нарушений.

Потенциальных мишеней-маркеров депрессии множество, что обусловило многообразие генетических моделей депрессии с нокаутированными генами. Тем не менее, генетическая предрасположенность к депрессии в клинических когортах в данный момент изучена слабо в силу коморбидности с другими психическими расстройствами и сложности выделения

конкретных мишеней депрессии. Большинство генетических исследований фокусируются на моноаминергической системе: транспортере серотонина, рецепторах серотонина 1A и 2A, а также ферментах, лимитирующих синтез моноаминов (тирозин гидроксилаза, триптофан гидроксилаза, катехол-о-метилтрансфераза). Действительно, показана связь между полиморфизмом гена транспортера серотонина 5-HTTLPR и биполярным расстройством, суицидальным поведением и невротизмом. Кроме того, есть данные, что этот полиморфизм может влиять на стрессорную восприимчивость. Также в литературе есть данные о взаимосвязи полиморфизма гена триптофангидроксилазы и 5-HT_{1A}R и депрессии (Levinson, 2005; Yasoubi and Vaugeois, 2007).

Отдельно стоит упомянуть про роль стрессорного воздействия во время формирования нервной системы. В первую очередь это - перинатальный, неонатальный периоды, а также раннее детство. Исследования показали, что инфицирование матери гриппом во втором триместре беременности увеличивает риск развития шизофрении почти в два раза (Izumoto, Inoue and Yasuda, 1999). Повышенный уровень ФНО α в последнем триместре беременности является сильным предиктором какой-либо психопатологии у потомка (Buka *et al.*, 2001). Перенесенная в неонатальный период инфекция может вызвать неврологическое заболевание и задержку психомоторного развития в раннем детстве, что увеличивает риск психических нарушений во взрослом возрасте (Stoll *et al.*, 2004). Ретроспективный анализ пациентов с депрессией показал, что жестокое обращение либо пережитый в детстве сильный психологический стресс, потеря родителей ассоциированы с более тяжелым протеканием заболевания и более ранним его началом (Weissman *et al.*, 1997b; Edwards *et al.*, 2003; Rao *et al.*, 2010; Heim and Binder, 2012; Lindert *et al.*, 2014; Opel *et al.*, 2019). Причем влияние оказывает не столько тип стресса, сколько количество перенесенных эпизодов (Edwards *et al.*, 2003). Более умеренные по силе, но хронические воздействия, такие как нездоровая атмосфера в семье, ссоры родителей, недостаточная забота также увеличивают риск дистимии и депрессии, снижают возраст начала заболевания (Lizardi *et al.*, 1995; Weissman *et al.*, 1997b). Стрессорные события в детстве, плохая атмосфера в семье и генетическая предрасположенность могут быть взаимосвязаны. Зачастую трудное детство отягчается тяжелым социальноэкономическим положением в семье, а также может быть вызвано психическим заболеванием кого-то из родственников. Тем не менее, в исследовании на близнецах было показано, что перенесенный в детстве стресс является независимым фактором риска, оказывающим самостоятельное влияние на риск депрессии (Nelson *et al.*, 2002). Согласно теории «двух ударов», неблагоприятные внешние воздействия являются «вторым ударом» и вызывают депрессию при генетической предрасположенности (Гуляева, 2015). В развитии депрессивных нарушений участвует также

провоспалительная стимуляция в перинатальный и неонатальный периоды (Dammann, Kuban and Leviton, 2002; Stoll *et al.*, 2004). Механизм этого до конца не изучен, но есть данные, что перинатальные внутриматочные инфекции могут вызвать гибель нейронов путем апоптоза, нарушение синаптообразования и нарушения коннективности у младенцев (Dammann, Kuban and Leviton, 2002). Перинатальные, неонатальные и хронические воздействия могут участвовать в патогенезе депрессии через эпигенетические изменения. Увеличение уровня ацетилирования гистонов и метилирования ДНК в прилежащем ядре и гиппокампе происходит при хроническом стрессе «социального поражения», приводящем к формированию депрессивно-подобного поведения у крыс (Григорьян и др., 2015). Таким образом, можно выделить разные варианты передачи депрессии по наследству: генетически; в виде поведенческих паттернов, создаваемых в родительской семье; через аллостатическое изменение нейроэндокринной регуляции; а также с помощью эпигенетических механизмов.

Такие же результаты взаимосвязи стресса в детском возрасте и тревожно-депрессивного поведения во взрослом возрасте регулярно получают в экспериментальных моделях. На приматах было показано, что материнская депривация, удаление из группы в одиночную клетку и другие манипуляции, вызывающие стресс у детенышей макак-резусов, приводят к снижению исследовательской активности и уменьшению времени игры спустя несколько месяцев после окончания стрессорных процедур (Seay, Hansen and Harlow, 1962; Mckinney, Suomi and Harlow, 1971). Материнская депривация или провоспалительная стимуляция в неонатальный период вызывают тревожно-депрессивное поведение и нарушение работы ГГНС во взрослом возрасте у крыс. Эти изменения также как и у людей передаются потомкам первого поколения, причем по материнской линии передаются и поведенческие и эндокринные нарушения, а по отцовской – поведенческие (Luba Sominsky *et al.*, 2012; Walker *et al.*, 2012), что может указывать на участие эпигенетических механизмов в формировании индуцируемых НПС нарушений. В частности, в литературе есть данные, что неонатальный провоспалительный стресс вызывает ацетилирование гистона H3 в гиппокампе и базолатеральной амигдале (Sominsky *et al.*, 2011).

Для объяснения долговременных эффектов стресса Sterling и Eyer ввели понятие аллостаза, концепция которого была позднее дополнена Bruce S. Mc Ewen (Mc Ewen, 1998). Аллостаз – «достижение стабильности через изменение» подразумевает адаптацию стресс-реализующих систем к стрессорным условиям в случае длительной аллостатической нагрузки. То есть последствием стресса является аллостатическое изменение нейроэндокринной регуляции: структурно-функциональные изменения ГГНС, лимбических и корковых структур мозга. У пациентов с депрессией, подвергавшихся в детстве физическому или психоэмоциональному стрессу была меньше площадь неокортекса (Opel *et al.*, 2019) и снижен

объем гиппокампа (Rao *et al.*, 2010). У взрослых здоровых людей, переживших в детстве плохое обращение, обнаружили нарушение стрессорной реакции (при оценке по уровням АКТГ и кортизола) по гипореактивному типу (Carpenter *et al.*, 2007), а также нарушение регуляции по типу отрицательной обратной связи (дексаметазоновый тест) (Heim *et al.*, 2008). Даже мягкие воздействия в неонатальный период оказывают значительное влияние на формирование ГГНС. В зависимости от силы воздействия, влияние может быть и отрицательным, и положительным. У крыс, которых в неонатальный период приучали к рукам, во взрослом возрасте обнаружили повышенные концентрации ГР рецепторов в гиппокампе по сравнению с интактными животными. Повышенный уровень рецепторов в этом отделе мозга увеличивает чувствительность к глюкокортикоидам и повышает эффективность регуляции по типу отрицательной обратной связи. Позднее у этих животных в возрасте старше 12 месяцев был меньше выражен когнитивный дефицит. У них был ниже, чем у интактных животных исходный уровень кортикостерона в крови, а также не наблюдались уменьшение числа клеток в гиппокампе и нарушения контекстуальной памяти (Papaioannou *et al.*, 2002; Kaffman and Meaney, 2007). Многократная материнская депривация в неонатальный период – сильный стресс, вызывающий негативные последствия на функционирование ГГНС: во взрослом возрасте у таких животных повышена активность ГГНС, а в поведении присутствуют тревожные и депрессивно-подобные нарушения (Wigger and Neumann, 1999; Marais *et al.*, 2008). Такой же патологический эффект на ГГНС оказывает неонатальное введение ЛПС. Показано, что двукратная инъекция ЛПС в раннем возрасте приводит к снижению уровня экспрессии белка ГР рецепторов в гипоталамусе, фронтальной коре и гиппокампе взрослых животных, а также вызывает нарушение регуляции ГГНО по принципу отрицательной обратной связи (Shanks, Larocque and Meaney, 1995a; Shanks *et al.*, 2000a). У таких животных повышена концентрация кортикотропин-рилизинг гормона и вазопрессина, а также нарушена экспрессия мРНК кортикотропин-рилизинг гормона в PVN (Shanks, Larocque and Meaney, 1995a). Ненатальный провоспалительный стресс вызывает стойкое тревожно-депрессивное поведение у крыс и нарушение работы ГГНС во взрослом возрасте.

2.9 Модельные методы исследования депрессии

Многие данные о патогенезе депрессивных расстройств были получены с помощью экспериментальных моделей с использованием животных. Экспериментальное моделирование депрессии позволяет использовать инвазивные методы для разработки и клинических испытаний лекарственных препаратов, а также для изучения механизмов и динамики патогенеза заболевания. Большая часть работ проводится на грызунах в связи с широкой

доступностью данного экспериментального объекта. В 70-80-х годах были сформулированы основные требования к животной модели депрессии: 1) надежность и повторяемость результатов, а также наличие измеримых параметров, характеризующих патологию у животных; 2) симптомологическая валидность (face validity) – психологические и физиологические симптомы депрессии у животных должны соответствовать клинической картине заболевания; 3) предикторная валидность (predictive validity) - экспериментальные животные должны адекватно реагировать на терапию клинически эффективными лекарственными средствами; 4) конструктивная валидность (construct validity) – модель должна согласовываться с текущими представлениями о механизмах патологии, что необходимо для углубленного изучения исследуемого заболевания (McKinney and Bunney, 1969; Willner, 1984). 5) Немаловажным параметром модели депрессии является хроническое проявление симптомов. Для достижения клинического эффекта, антидепрессанты необходимо применять в течение длительного времени. В то же время поведенческие нарушения, которых удается добиться с помощью большинства моделей, не являются длительными, то есть полноценная имитация работы антидепрессантов на таких моделях невозможна. Часть депрессивных симптомов нельзя выявить у животных в силу эмоционально-когнитивной специфики. В первую очередь, это касается таких симптомов как пониженное настроение, чувство вины, хроническая усталость, суицидальные мысли. Тем не менее, многие симптомы можно перевести в измеримые показатели с помощью поведения в специфических условиях: нарушение сна, потеря аппетита, снижение мотивации и активности, признаки ангедонии. Считается, что наличие позитивной реакции на антидепрессанты и отсутствие реакции на нейролептики – один из основных критериев оценки качества модели депрессии. Тем не менее, этот критерий не может быть единственным, так как значительное количество пациентов с депрессивными нарушениями резистентны к существующим антидепрессантам (Willner, 1990). В настоящее время используют довольно много моделей депрессии, в основном на грызунах (см. далее).

В качестве генетических моделей депрессии используют несколько линий крыс, которые без дополнительных воздействий склонны к проявлению симптомов тревожно-депрессивного поведения начиная с ювенильного возраста: Wistar Kyoto, Flinders Sensitive Line и другие (Pare and Redei, 1993; De La Garza II and Mahoney III, 2004; Yacoubi and Vaugois, 2007). К каждой из этих линий есть соответствующая линия контрольных крыс. В качестве модели депрессии часто используют мышей с заблокированными генами, кодирующими части медиаторных систем мозга (моноаминергической, глутаматергической) нейротрофической системы, ГГНС (Yacoubi and Vaugois, 2007; Nestler and Hyman, 2010). Большинство негенетических моделей депрессии

включают все возможные варианты стресса: социальный, физический, психоэмоциональный, провоспалительный, острый, мягкий, хронический, непредсказуемый, неизбежный, во взрослом возрасте, в ювенильном, неонатальном или перинатальном периодах. Правильно подобранные и скомпонованные, эти варианты стресса позволяют вызвать устойчивое тревожное и депрессивно-подобное поведение, а также все структурно-функциональные и биохимические нарушения, которые выявляются в клинических исследованиях.

В настоящее время широко распространены модели, включающие материнскую депривацию в неонатальный период или хронический непредсказуемый стресс (ХНС) во взрослом возрасте. Действительно, в клинических исследованиях показано, что пережитое в детстве жестокое обращение увеличивает вероятность развития депрессии и в подростковом, и во взрослом возрасте, а также способствует более тяжелому протеканию заболевания и ухудшает прогноз (Rao *et al.*, 2010; Heim and Binder, 2012; Lindert *et al.*, 2014; Opel *et al.*, 2019). В основной части данной работы мы осуществляли моделирование тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс с помощью неонатального провоспалительного стресса (НПС). Хотя данная модель была разработана более 20 лет назад (Shanks, Larocque and Meaney, 1995b), работ по ней опубликовано не так много. Тем не менее данная модель представляет научный интерес в связи с провоспалительной этиологией депрессивных нарушений: показано, что психические расстройства у людей могут быть связаны с инфекционной индукцией иммунной системы в младенчестве (Dammann, Kuban and Leviton, 2002; Stoll *et al.*, 2004). НПС осуществляли посредством двукратной внутрибрюшинной инъекции бактериального токсина липополисахарида (ЛПС). Неонатальное введение эндотоксина на 3 и 5 постнатальные дни оказывает влияние на метаболизм (снижение концентрации глюкозы в крови) и на гормональный статус (увеличение содержания кортикостерона в крови) в первые несколько часов после инъекции (Walker *et al.*, 2004; S. D. Vilbo *et al.*, 2005). В первые дни после инъекции происходит индукция микроглии (CD11b) и увеличение экспрессии мРНК ИЛ-1 β в гиппокампе (S. D. Vilbo *et al.*, 2005; Sominsky *et al.*, 2011). Кроме того, введение ЛПС крысам оказывает воздействие на материнское поведение, снижая заботу самок о потомстве (Walker *et al.*, 2004). ЛПС связывается с рецепторами семейства TLR, что вызывает системную реакцию: активация комплемента, синтез простагландина E (PGE) и провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α (Dinarello, 1999; Schiltz and Sawchenko, 2003; Steiner *et al.*, 2006; Fuller *et al.*, 2017). В свою очередь, эти молекулы активируют ЦОГ-2 микроглиальных клеток, в результате начинается синтез PGE и индукция нейровоспаления (Maier *et al.*, 1998). Введение ЛПС взрослым интактным животным вызывает тревожное и депрессивно-подобное поведение в тестах «открытое поле» и «вынужденное плавание». Эти изменения поведения опосредуются

простагландинами: одновременное с ЛПС введение индометацина и нимесулина предотвращает развитие поведенческих отклонений (de Paiva *et al.*, 2010). Неонатальная провоспалительная индукция вызывает долговременные последствия на поведение взрослых животных. Взрослые крысы после НПС менее подвижны в тесте «открытое поле», реже заходят в открытые рукава и проводят в них меньше времени в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт», проявляют меньше исследовательской активности в норковом тесте (hole-board) (Breivik *et al.*, 2002; Walker, March and Hodgson, 2004; Walker *et al.*, 2009). Помимо нарушений поведения, НПС нарушает метаболизм, работу иммунной и нейроэндокринной систем (Wang *et al.*, 2013; Zavitsanou *et al.*, 2013; Ong *et al.*, 2017). Введение ЛПС приводит к изменению концентрации стрессорных гормонов и цитокинов, реализующемуся как на периферическом, так и на центральном уровнях. В развитии тревожности и психических отклонений во взрослом возрасте участвуют серотонинергическая, дофаминергическая и каннабиноидная системы. Неонатальный ЛПС вызывает увеличение связывания дофамина с рецепторами (D2) в прилежащем ядре и вентральном стриатуме и уменьшения связывания рецепторов серотонина (5HTT1A) в гиппокампе (поле CA1) и вентромедиальном гипоталамусе, а также снижение связывания каннабиноидных рецепторов (CB1) в амигдале. При этом ЛПС в неонатальный период не оказывает влияния на связывание этих агонистов с рецепторами D1 и 5HTT2A у взрослых животных. НПС оказывает влияние на функционирование во взрослом мозге ключевых компонентов моноаминергической системы в стволе мозга: у взрослых крыс после НПС повышена активность тирозингидроксилазы в голубом пятне (locus coeruleus) и активирована микроглия в substantia nigra (Ong *et al.*, 2017). То есть НПС вызывает долговременные изменение работы серотонинергической, дофаминергической и каннабиноидной систем мозга (Zavitsanou *et al.*, 2013). НПС оказывает воздействие на лимбическую систему мозга: у взрослых крыс, которым в неонатальный период делали внутрицеребральную инъекцию ЛПС, во взрослом возрасте был уменьшен объем гиппокампа и снижено число нейронов, а также число отростков в поле CA1 гиппокампа (Wang *et al.*, 2013). Во взрослом возрасте нарушения могут проявляться либо как изменения в базальном функционировании систем, либо как измененные реакции на острый провоспалительный стресс или стресс, вызванный реакцией на тестирование поведения. У взрослых крыс после НПС нарушен механизм регуляции ГГНС по типу отрицательной обратной связи: введение дексаметазона у крыс после НПС в меньшей степени снижает концентрацию АКТГ после стресса. Помимо этого, у взрослых крыс после НПС повышен базовый уровень кортикотропин-рилизинг гормона и вазопрессина. Выявляются нарушения ГГНС также и на гипоталамо-гипофизарном уровне: у крыс после НПС снижен уровень ГР в гиппокампе, гипоталамусе и

фронтальной коре, повышена экспрессия мРНК кортикотропин-рилизинг гормона в PVN (Shanks, Larocque and Meaney, 1995a). Секреция кортикостерона происходит небольшими выбросами, частота и амплитуда которых подвержены циркадианным изменениям. У неонатально стрессированных животных сохраняется циркадианная картина изменений содержания кортикостерона в крови, но увеличиваются как частота, так амплитуда отдельных выбросов (Shanks *et al.*, 2000b). НПС вызывает долговременные изменения не только в ГГНС, но и в системе провоспалительных цитокинов. НПС вызывает активацию микроглии и увеличение содержания провоспалительного цитокина ИЛ-1 β в гиппокампе взрослых крыс (Wang *et al.*, 2013). После хронического стресса у взрослых крыс после НПС была значительно снижена устойчивость к росту опухолей и активность NK-клеток (Hodgson, Knott and Walker, 2001). У крыс после НПС нарушена регуляция гомеостаза глюкозы и выявлен дефицит инсулина. То есть ранняя провоспалительная индукция является фактором риска для развития диабета (Walker, Owens, *et al.*, 2006). Неонатальный ЛПС оказывает влияние на изменение работы симпатической нервной системы во взрослом возрасте. Патологические изменения САС проявляются в повышенном уровне фосфорилирования тирозингидроксилазы, ключевом ферменте синтеза катехоламинов. Повышение активности тирозингидроксилазы в надпочечниках у крыс после НПС сохраняется во взрослом возрасте и, возможно, участвует в увеличении стрессорной чувствительности (Sominisky *et al.*, 2013). Ювенильные крысы, в том числе после НПС, менее тревожны, чем взрослые (Boguszewski and Zagrodzka, 2002; Andrade *et al.*, 2003). Показано, что неонатальный стресс путем инъекции ЛПС на 3 и 5 постнатальные дни влияет на поведение взрослых и пожилых животных, не оказывая значимого эффекта на поведение ювенильных крыс (Walker, March and Hodgson, 2004; Tishkina *et al.*, 2016). В то же время однократная инъекция ЛПС на 14-ый постнатальный день не оказывает такого же влияния на поведение взрослых животных (Spencer, Heida and Pittman, 2005). По-видимому, период времени сразу после рождения важен для формирующихся нервной и эндокринной систем, и воздействие именно в этот промежуток времени оказывает существенное влияние, имеющее долговременные последствия. Кроме того, для достижения устойчивого результата необходима двукратная провоспалительная индукция у новорожденных крысят (Spencer *et al.*, 2006).

Для проверки валидности тестов «вынужденное плавание» и «предпочтение раствора сахарозы» мы использовали другую методику формирования экспериментальной депрессии: хронический непредсказуемый стресс. Впервые эта методика была предложена в 1980-х гг. (Katz, 1982; Willner *et al.*, 1987) и в настоящее время является одной из наиболее популярных для формирования тревожно-депрессивного поведения у грызунов. Хронический

непредсказуемый стресс вызывает увеличение времени пассивного поведения в тесте «вынужденное плавание», снижение предпочтения раствора сахарозы, изменяет поведение в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» (Katz, 1982; Willner *et al.*, 1987; Echandía *et al.*, 1988; Kompragne *et al.*, 2008). Для формирования устойчивых нарушений поведения необходимо подвергать животных непредсказуемому стрессорному воздействию в течение не менее 2-3 недель, а сформированные нарушения поведения сохраняются у экспериментальных животных в течение минимум двух недель после завершения стрессорных воздействий (Willner *et al.*, 1987). Тревожное и депрессивно-подобное поведение, полученное в данной стрессорной парадигме, сопровождается различными морфофункциональными и молекулярно-биохимическими нарушениями в ЦНС, но в настоящей работе мы не ставили себе целью изучение этих нарушений. Крыс с ХНС мы использовали для углубленного сравнения тестов «вынужденное плавание» и «предпочтение раствора сахарозы», так как, согласно недавно вышедшим обзорным работам (Molendijk and de Kloet, 2015, 2019; De Kloet and Molendijk, 2016), в современной науке отношение к этим тестам неоднозначное.

2.10 Тесты на выявление депрессивно-подобного поведения у крыс

Тест вынужденного плавания – наиболее часто используемый тест для подтверждения формирования экспериментальной депрессии. Время зависания в воде снижается при администрировании животных антидепрессантами, соответственно, данная поведенческая модель удобна для скрининга веществ с потенциальными антидепрессантными свойствами. В статье 1977 г. Р.Д. Порсолт впервые представил этот тест для оценки эффективности антидепрессантов, а также постулировал, что быстрый к пассивному поведению – признак поведения отчаяния. Тест вынужденного плавания применяют во всех доклинических испытаниях антидепрессантов. Считается, что при использовании в таком контексте этот тест обладает хорошей предикторной валидностью (Yacoubi and Vaugeois, 2007; Slattery and Cryan, 2012). Тем не менее с момента введения теста вынужденного плавания в лабораторную практику, принципиально новых антидепрессантов не появилось, то есть в качестве скринингового метода для выявления принципиально новых веществ с антидепрессантной активностью он, возможно, не подходит. Кроме того, некоторые вещества, не являющимися антидепрессантами могут оказывать ложноположительный эффект на поведение животных в тесте вынужденного плавания. Снижение доли пассивного плавания вызывают амфетамин, мусцимол (антагонист ГАМК α -рецептора), бензодиазепины, барбитураты, скополамин (Porsolt,

Bertin and Jalfre, 1978; De Pablo *et al.*, 1991). Помимо того, антидепрессанты проявляют клинический эффект при регулярном приеме длительностью несколько недель, а в условиях скринингового тестирования животных, препараты, как правило, вводят 1-3 раза, следовательно нет оснований связывать эффект антидепрессантов у людей, страдающих депрессией, и изменение активности грызунов в тесте вынужденное плавание.

Помимо оценки эффективности антидепрессантов с помощью теста вынужденного плавания выявляют депрессивно-подобное поведение у крыс, причем в настоящее время этот тест стал мерилем успешности экспериментальных моделей депрессии. Тем не менее, с самого начала использование этого теста для оценки выраженности депрессивно-подобных нарушений является спорным, так как понятие «поведение отчаяния» - в данном случае антропоморфная трактовка смены стратегии борьбы со стрессом с активной на пассивную (Molendijk and de Kloet, 2015, 2019; De Kloet and Molendijk, 2016). В ситуации неизбежного стрессора пассивная стратегия поведения, исключая активное плавание, ныряние, попытки карабкаться на стенки сосуда, способствует экономии энергетических ресурсов то есть, по сути, является лучшей способностью адаптироваться в условиях неизбежного стрессора. То есть в первый день теста вынужденного плавания крысы учатся применять в данных условиях пассивную стратегию преодоления, и результат этого обучения сохраняется на протяжении не менее месяца (Gutiérrez-Mecinas *et al.*, 2011). Ингибирование синтеза белка анизомицином в первый день теста приводит к отсутствию изменения доли пассивного плавания на второй день теста, что также указывает на участие памяти при выборе стратегии преодоления стрессорной ситуации (De Pablo *et al.*, 1989). Кроме того, физически натренированные крысы демонстрируют достоверно более высокую долю пассивного плавания по сравнению с нетренированными животными (Collins *et al.*, 2009). В данном случае это нельзя интерпретировать как депрессивную симптоматику, так как показано, что физические тренировки уменьшают тревожное поведение и улучшают когнитивную функцию у животных (van Praag *et al.*, 1999; Binder *et al.*, 2004), а также имеют анксиолитический и антидепрессантный эффект у людей (Stephoe *et al.*, 1989; Dimeo *et al.*, 2001). То есть повышение доли пассивного плавания у тренированных животных вызвано лучшей способностью к адаптации. При выборе стратегии сопротивления стрессору используется след памяти о предыдущих стрессорных эпизодах, а ключевую роль в создании такой памяти играет гиппокамп. Показано, что при остром стрессорном воздействии у крыс происходят эпигенетические изменения в зубчатой фации гиппокампа – фосфо-ацетилирование гистона H3 (Reul and Chandramohan, 2007). У тренированных крыс увеличение доли пассивного плавания на второй день теста сопровождается более выраженным повышением фосфо-

ацелирирования гистона H3 и индукцией гена раннего ответа c-Fos в гранулярных нейронах зубчатой фации гиппокампа, чем у контрольных животных (Bilang-Bleuel *et al.*, 2005; Collins *et al.*, 2009). Этот процесс может запускаться минимум двумя путями: через ГР и через NMDA-рецепторы (Reul and Chandramohan, 2007; Gutiérrez-Mecinas *et al.*, 2011). В данной модели кортикостерон запускает эпигенетические процессы в гиппокампе через гены раннего ответа c-Fos и Egr-1, за счет чего улучшается консолидация памяти. Если блокировать этот путь в первый день теста, то увеличения доли пассивного плавания во второй день теста не происходит (Korte *et al.*, 1996; Gutiérrez-Mecinas *et al.*, 2011). Также у животных с адреналэктомией не происходит увеличения доли пассивного плавания на второй день тестирования по сравнению с первым, если в первый день им не вводят экзогенные глюкокортикоиды непосредственно после процедуры (Jefferys *et al.*, 1983). То есть эпигенетические изменения в зубчатой фации гиппокампа обуславливают повышение доли пассивного плавания, и связано это не с отчаянием, а, по-видимому, с изменением обработки первичной информации и последующей консолидацией памяти. Хотя это также может являться проявлением одного из распространенных, но редко упоминаемых в литературе симптомах депрессии – дефиците угашения памяти о страхе (Дубровина, 2011). Тем не менее, выявляется противоречие: ХНС так же, как и натренированность приводит к повышению доли пассивного плавания на второй день теста. В то же время, тренировки вызывают увеличение уровня ГР рецепторов в полях CA1, CA2, CA3 и зубчатой фации гиппокампа (Droste *et al.*, 2007), а хронический стресс наоборот – снижение уровня ГР в префронтальной коре (Mizoguchi *et al.*, 2003), уровней МР и ГР в полях CA1 и CA3 и зубчатой фации гиппокампа (Meyer *et al.*, 2001; Zhe, Fang and Yuxiu, 2008). Возможно, это противоречие связано с тем, что значительное влияние на поведение в тесте вынужденного плавания оказывают другие системы – например, серотонинергическая, глутаматергическая и дофаминергическая системы (Linthorst *et al.*, 2002; Cabib and Puglisi-Allegra, 2012; Tye *et al.*, 2013), уровень активности которых может существенно различаться для тренированных крыс и животных после ХНС. Также смена стратегии преодоления стресса происходит при участии префронтальной коры, прилежащего ядра и восходящих мезолимбических путей (Mayberg *et al.*, 2005; Warden *et al.*, 2012).

Ангедония – неспособность получать удовольствие, один из основных симптомов клинической депрессии, протекающей с превалированием депрессивной симптоматики (в англоязычной литературе – меланхолический подтип депрессивного расстройства). Для выявления этого состояния у животных измеряют потребление (одна поилка на клетку) и/или предпочтение (поилку с раствором дополняют поилкой с чистой водой) сладкого раствора: используют растворы сахарозы или сахара различных концентраций, время и условия

тестирования также варьируют. Впервые в таком виде эта методика была предложена Ричардом Катцом в 1982 году (Katz, 1982). Снижение потребления/предпочтения сахарозы у экспериментальных животных считается признаком наличия дефектов в системе подкрепления, то есть отражает нарушения, аналогичные обуславливающим ангедонию у людей. Ангедония у крыс, перенесших ХНС, проявляется в снижении предпочтения не только раствора сахарозы и сахарина (как после пищевой депривации, так без нее), а также еды (после 20-часовой депривации) и амфетамина (Papp, Willner and Muscat, 1991; Willner *et al.*, 1991). При этом снижение потребления сахарозы проявляется при использовании разбавленного раствора сахарозы (0.7%) в той же или даже большей степени, чем при использовании раствора с высокой концентрацией (34%) (Papp, Willner and Muscat, 1991). Это также указывает на нарушение в системе вознаграждения, а не на общее снижение потребления пищи у экспериментальных животных. Кроме того, ХНС, который обычно используют для формирования ангедонии, увеличивает минимально необходимый уровень порога стимула-вознаграждения (threshold). при интракраниальной самостимуляции вентральной области покрышки у крыс (Moreau *et al.*, 1992). Мягкое хроническое непредсказуемое стрессорное воздействие вызывало снижение потребления раствора сахарозы крысами. У этих же животных обнаружили увеличение уровней дофамина, серотонина и их метаболитов, а также снижение эффективности связывания дофаминовых D2 рецепторов в обонятельных луковицах крыс (Willner *et al.*, 1991). То есть, по-видимому, в патогенез поведенческих и серотонинергической систем мозга (Willner *et al.*, 1991; Willner, 1997). Проявления ангедонии, вызванные ХНС, можно предотвратить с помощью одновременного с ХНС введения антидепрессантов. Если депрессивно-подобное поведение уже сформировано, симптомы ангедонии поддаются коррекции с помощью разных групп антидепрессантов и их сочетаний, причем для полного исчезновения симптомов требуется 3-5 недель (Moreau *et al.*, 1992; Willner, 1997).

Таким образом, доля пассивного плавания в тесте вынужденного плавания отражает реализуемую в настоящий момент стратегию преодоления неизбежного стрессорного воздействия, а не психологический статус животного. Стратегия преодоления действия острого стрессорного воздействия зависит от многих факторов, и в настоящее время нет четкого представления, на какой из компонентов этой сложной стресс-реализующей системы организма воздействуют антидепрессанты. В то же время тест на ангедонию является хорошей альтернативой тесту «вынужденное плавание», имеющей обширную доказательную базу, в том числе в области возможных патогенетических механизмов. Следовательно, тест на предпочтение раствора сахарозы, вероятно, более корректно применять для выявления депрессивно-подобного поведения, чем тест «вынужденное плавание». В то же время надо

помнить, что нарушение работы системы вознаграждения не единственный признак депрессии. Ангедонию, как правило, выявляют у крыс после ХНС, в то же время крысы, у которых депрессивно-подобное поведение было сформировано с помощью материнской депривации в неонатальный период, не всегда демонстрируют снижение предпочтения раствора сахарозы (Shalev and Kafkafi, 2002).

3 ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель исследования. Целью данной работы является исследование функционального статуса стресс-реализующих систем при тревожном и депрессивно-подобном поведении у экспериментальных животных и пациентов с тревожно-депрессивной симптоматикой.

Задачи исследования. Для достижения этих целей были поставлены следующие задачи:

1. сравнить классическую модель индукции депрессивно-подобного поведения – хронический непредсказуемый стресс (ХНС) и модель депрессивно-подобного поведения, вызванного неонатальным провоспалительным стрессом (НПС);
2. исследовать функциональное состояние ГГНС (кортикостерон), систем провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α) и нейротрофинов (BDNF, NGF) в крови и отделах мозга крыс после НПС;
3. исследовать функциональное состояние ГГНС (кортикостерон), систем провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α) и нейротрофинов (BDNF, NGF) в крови и отделах мозга крыс с тревожным и депрессивно-подобным поведением после НПС и субхронического стрессорного воздействия;
4. разработать психо-эмоциональный стресс-тест, исследовать функциональное состояние ГГНС (кортизол, АКТГ), систем провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α) и нейротрофинов (BDNF) у пациентов с тревожно-депрессивной симптоматикой (ТДС) в исходном состоянии и после острого психо-эмоционального стрессорного воздействия.

4 МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая схема исследования. В экспериментальной части нашей работы были использованы 113 самцов крыс линии Wistar: 52 для моделирования депрессии с помощью хронической активации стрессорных систем в ответ на непредсказуемые стрессорные воздействия (для уменьшения громоздкости названия модели, мы оставили вариант наиболее широко принятый в русско- и англоязычной литературе – хронический непредсказуемый стресс, ХНС) и 61 для моделирования депрессии с использованием НПС. ХНС осуществляли в течение 8 недель. Перед началом и после окончания ХНС крысы контрольной и экспериментальной групп проходили тест «вынужденное плавание» в два этапа: в первый день «обучения» крысы находились в воде в течение 15 минут, во второй день «проверки» - 5 минут. Перед окончанием ХНС крысы обеих групп проходили тест на предпочтение раствора сахарозы. НПС осуществляли с помощью инъекций бактериального липополисахарида (ЛПС) в дозе 50 мкг/кг на 3 и 5 постнатальные дни. При рождении крысят все пометы были поделены на две группы: части пометов вводили подкожно бактериальный ЛПС (всем крысятам в помете), другой части вводили эквивалентный объем стерильного физиологического раствора. Через 30 дней 19 животных *ювенильного* возраста тестировали для выявления тревожного и депрессивно-подобного поведения, до и после поведенческих тестов забирали кровь из хвостовой вены для биохимических исследований, далее этих крыс выводили из эксперимента. Через 90 дней половину оставшихся крыс каждой из групп последовательно тестировали в следующих тестах: «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «выработка условно-рефлекторного замиранья», «предпочтение раствора сахарозы», «вынужденное плавание». После окончания поведенческих тестов животных обеих групп, включая тех, кто не участвовал в тестировании, декапитировали. В сыворотке крови и гомогенатах коры больших полушарий, фронтальной коры и гиппокампа определяли содержание кортикостерона, BDNF, NGF (только структуры мозга), ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α . Для ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α определяли уровень экспрессии мРНК в структурах мозга крыс.

В клинической части данной работы приняли участие 74 пациента с тревожно-депрессивной симптоматикой (ТДС), поступивших для лечения в психоневрологический стационар, и 44 здоровых добровольца. Всех испытуемых оценивали по шкалам Гамильтона

(шкала для оценки депрессии психиатром) и Спилбергера (шкала для самооценки уровня тревожности), также пациенты осуществляли самооценку по шкале Бека. В сыворотке крови испытуемых определяли содержание кортизола, АКТГ, BDNF, ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α . Кровь для исследования забирали у испытуемых в состоянии спокойного бодрствования и через 1 час после умеренного психо-эмоционального стрессорного воздействия.

4.1 Модель выработки депрессивно-подобного поведения у крыс с помощью ХНС

Формирование депрессивно-подобного поведения с помощью ХНС (Рисунок 2) проводили на самцах аутбредной линии Вистар, полученных из питомника «krolinfo». Животных в возрасте 4,5-5 мес. помещали в виварий ИВНД и НФ РАН в клетки по 5 особей со свободным доступом к пище и воде и 12-часовом цикле день/ночь, где они содержались в течение недели. После окончания адаптационного периода проверяли потребление раствора сахарозы у крыс после 12-часовой депривации еды и воды, для чего помещали их на 1 час в индивидуальные клетки с поилкой, наполненной 1,5% раствором сахарозы, измеряли количество выпитой животным жидкости. Проверку потребления раствора сахарозы повторяли 4 раза с интервалом в 24 часа, для эксперимента оставляли животных со средним уровнем потребления раствора сахарозы. Далее проводили тест вынужденного плавания в два этапа (описание процедуры – см. ниже) для определения поведенческих характеристик интактных животных. После проведения этих тестов, животных делили на экспериментальную и контрольную группы случайным образом. После чего животных экспериментальной группы помещали в индивидуальные полипропиленовые клетки и в течение 8 недель подвергали ХНС. Таким образом, социальная изоляция была постоянным стрессором на протяжении всего эксперимента. Дополнительно крыс экспериментальной группы подвергали пищевой или водной депривации, содержанию в дискомфортных условиях (мокрые опилки, наклонная клетка), внезапное скучивание прежде изолированных крыс до 4 штук в одной индивидуальной клетке, периодическое освещение в ночной фазе суточного цикла, стробоскопическое освещение. Стрессоры меняли дважды в день через 12-16 часов, случайным образом.

С 1-ой по 6-ую неделю в конце каждой недели всех крыс снова подвергали тесту на потребление раствора сахарозы отслеживания динамики формирования нарушений поведения. В этом случае использовали 5% раствор сахарозы после 12 часовой депривации еды и воды, заменяя в клетке поилку с водой на поилку с раствором сахарозы. В конце 7 недели крыс подвергали тесту на предпочтение раствора сахарозы в течение 1 часа, а в конце 8 недели - в

массы тела животного на третьей (P3) и пятой (P5) сутки после рождения. В рамках данной работы не предусматривалась контрольная группа с полностью интактными животными. Для выявления отсроченных последствий провоспалительной стимуляции и исключения влияния неонатальной болевой стимуляции, вызванной уколом, животные контрольной группы получали инъекцию изотонического раствора в эквивалентном объеме (100 мкл на 10 г массы тела животного).

Перед проведением тестирования поведения, животных приучали к рукам в течение 10 минут 5 дней. В возрасте 3 месяца (P90-P95) поведение крыс оценивали в нескольких тестах, в том числе обладающих стрессорной нагрузкой (Рисунок 3). Батарея тестов включала последовательное исследование в тестах "открытое поле", «приподнятый крестообразный лабиринт», выработка условно-рефлекторного замирания, тест на предпочтение раствора сахарозы и «вынужденное плавание». Показано, что тест «открытое поле» (McCormick, Smith and Mathews, 2008), электрическая стимуляция, применяющаяся при выработки условно-рефлекторного замирания (Castagné *et al.*, 2010), и тест «вынужденное плавание» (De La Garza II and Mahoney III, 2004; Hampson *et al.*, 2004) вызывают увеличение содержания кортикостерона в крови, то есть обладают стрессорной нагрузкой. Суммарное воздействие тестирования поведения считали субхроническим стрессорным воздействием. Чтобы разделить влияние субхронического стресса, вызванного тестированием поведения во взрослом возрасте, и неонатальной провоспалительной стимуляции животные обеих групп были разделены на две части: с тестированием поведения и без него (Таблица 1). Таким образом, в каждой из групп были выделены подгруппы животных «без поведения», то есть не подвергавшихся субхроническому стрессорному воздействию.

Таблица 1 - Список экспериментальных групп при моделировании и проверке тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс

Группа	Неонатальный период	Возраст 3 мес.
Контроль	Инъекция NaCl	Без поведения
НПС	Инъекция ЛПС	Без поведения
Контроль+стресс	Инъекция NaCl	Тестирование поведения
НПС+стресс	Инъекция ЛПС	Тестирование поведения

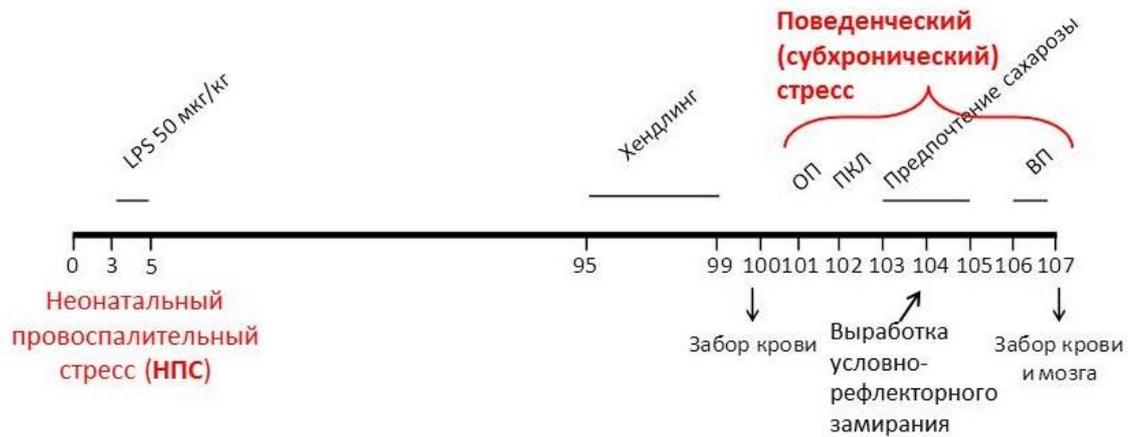


Рисунок 3. Схема манипуляций для формирования и проверки тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс.

Для анализа возрастной динамики развития тревожного и депрессивно-подобного поведения после НПС у крыс 19 животных из основной части эксперимента тестировали в возрасте 30 дней. Ювенильных крыс в возрасте 1 мес. тестировали в следующих тестах: «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «вынужденное плавание». В этой возрастной группе крыс не выделяли группы крыс «без поведения», т.е. без субхронического стрессорного воздействия, вызванного тестированием поведения. Тем не менее, оценку уровней кортикостерона и провоспалительного цитокина ФНО α до и после стрессорного воздействия проводили в плазме крови из хвостовой вены.

Тест «открытое поле». Тест "открытое поле" проводили в круглой арене диаметром 1 м, окруженной стенкой. Высота стенки - 30 см, освещенность арены - 106 лк. Крысу помещали в центр арены, далее в течение 5 минут записывали видеозапись с поведением животного с помощью камеры, размещенной над центром арены. Анализ записей проводили с помощью программного пакета EthoVision 3.0 (Noldus, Нидерланды), с последующим визуальным контролем. Регистрировали время выхода из центра, пройденную дистанцию, число стоек, число и длительность эпизодов груминга, число дефекационных болюсов.

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Тест в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) проводили в условиях слабой освещенности открытых рукавов (6 лк). Крысу помещали в центр ПКЛ, поведение записывали на видеокамеру. Анализ видеозаписи проводили с помощью программного пакета EthoVision 3.0 (Noldus, Нидерланды). Регистрировали время пребывания в открытых и закрытых рукавах и центре лабиринта, а также число выходов в открытые и число входов в закрытые рукава.

Тест «выработка условно-рефлекторного замирания». В первый день проводили выработку условно-рефлекторного замирания у крыс. Животных помещали в камеру для проведения теста и оставляли на 3 минуты для привыкания к ней. После чего в течение 30 с давали условный сигнал – тон с частотой 100 Гц громкостью 120 дБ. Последние 2 с условного стимула подкрепляли безусловным раздражителем – электрокожным раздражением с силой тока 0,8 мА. Далее следовал межстимульный интервал длительностью 1 мин. Во время межстимульных интервалов и периода привыкания к камере животным предъявляли белый шум громкостью 70 дБ. Последовательность «условный сигнал – ток – межстимульный интервал» повторяли 3 раза. Для проведения теста использовали оборудование StartleFreezingBox (PanLab, Испания). Камера для проведения теста снабжена решетчатым полом с возможностью подачи электрического тока определенной силы и длительности, динамиком способным воспроизводить белый шум и тоновый сигнал различной громкости, а также датчиком, детектирующим количество движений животного.

На второй день после выработки условно-рефлекторного замирания проводили тестирование контекстуальной памяти животного. Для этого животное помещали в камеру и в течение 5 мин измеряли время замирания. На третий день тестировали память животного на условный сигнал. Для этого крыс на 6 мин помещали в те же камеры с измененной обстановкой (закрывали решетчатый пол и стены камеры). Первые 3 минуты животное сидело в тишине, далее в течение 3 мин давали условный сигнал. Измеряли процент времени замирания для каждой минуты.

Тест на предпочтение раствора сахарозы. Для тестирования предпочтения раствора сахарозы у крыс после НПС, животных приучали пить 20% раствор сахарозы без предварительной депривации воды и пищи, для чего помещали их в индивидуальные клетки на 15 минут. Клетки были аналогичны домашним клеткам, но в поилках находилась не вода, а 20% раствор сахарозы, доступ к которому не ограничивали. Далее подсчитывали число подходов к поилке, а также массу выпитого раствора. Эту процедуру повторяли до тех пор, пока не устанавливалось определенное количество индивидуальное для каждого животного выпиваемого им раствора сахарозы.

Тест на предпочтение раствора сахарозы проводили дважды: фоновое предпочтение в исходном состоянии проверяли до начала тестирования поведения. Второй тест проводили после выработки условно-рефлекторного замирания, чтобы узнать изменение предпочтения раствора сахарозы после стрессорного эпизода. Для выявления предпочтения сахарозы крыс помещали в аналогичные домашним клетки на 1 час после суточной депривации еды и питья. В этих клетках находилось по две поилки, в одной из которых была обычная вода, в другой – 20%

раствор сахарозы. Предоставляли возможность крысам свободно выбирать между этими двумя поилками. Предпочтение сахарозы рассчитывается как отношение массы выпитого раствора сахарозы к суммарной массе выпитой жидкости.

Тест «вынужденного плавания» (тест Порсолта). Тест вынужденного плавания проводили в цилиндрах, наполненных водой. Диаметр цилиндра - 30 см, высота столба жидкости – 40 см, температура воды - 25°C. Данный тест проводили в два этапа. На первом этапе крысу опускали в цилиндр с водой на 15 минут. Через 24 ч крысу повторно помещали в цилиндр (на 5 мин), регистрировали латентный период до первого эпизода неподвижности, а также суммарное время неподвижности. «Неподвижность» определяли как почти полную неподвижность животного, за исключением небольших редких движений лап, для поддержания глаз и носа над поверхностью воды. Регистрацию проводили с помощью видеокамеры, анализ видеозаписи осуществляли с помощью программного пакета EthoVision3.0 (Noldus, Нидерланды). Средняя масса животных в экспериментальной группе составила 372,6 г (SEM 8,9), в контрольной группе – 359,9 г (SEM 12,1).

4.3 Клиническая часть эксперимента

Критерии отбора в группы испытуемых. Клиническую часть данной работы выполняли на пациентах психоневрологического стационара и на здоровых добровольцах (Таблица 2). Испытуемые обеих групп были трудоспособного возраста (20-45 лет). В экспериментальную группу вошли 74 испытуемых с тревожно-депрессивной симптоматикой (ТДС). Все испытуемые экспериментальной группы на момент проведения исследования находились на стационарном лечении с диагнозами по МКБ в рубриках F32.10, F32.11, F33.10, F33.11, F40.x-F45.x.

В контрольную группу вошли 44 испытуемых. Все испытуемые контрольной группы на момент проведения исследования были физически здоровы, не имели в анамнезе психических и нейродегенеративных заболеваний. Все манипуляции, связанные с настоящим исследованием проводились после получения информированного согласия от испытуемых.

Таблица 2 - Характеристики выборки для клинической части эксперимента

Группа	Количество м/ж	Средний возраст (СД)	Средний балл по шкале Гамильтона (95%СД)	Средний балл по шкале Спилбергера (сумма субшкал) (95% СД)
Контроль	19/25	30 (28.9-32.3)	1.0 (0.6-1.5)	72.3 (67.7-76.9)
ТДС	30/44	31 (29.4-32.9)	17.4 (16.1-18.6)	106.9 (102.2-111.5)

В Таблице 2 представлены гендерные характеристики выборок, средний возраст, средние значения по шкале депрессии Гамильтона (Hamilton M., 1959) и шкале тревоги Спилбергера в адаптации Ю.Л. Ханина (Hanin, Y., 1983).

Психо-эмоциональная нагрузочная проба. Испытуемые проходили стресс-тест, дающий психо-эмоциональную нагрузку с умеренным стрессорным эффектом. В процедуре тестирования использовали черно-белые таблицы Шульте, каждого испытуемого тестировали отдельно. Тест проводили в два этапа:

1) нахождение цифр от 1 до 25, дополнительным стресс-фактором были требования к скорости прохождения теста;

2) нахождение цифр от 1 до 25 в условиях ограниченного времени (15 с) со сменой стимульного материала. При этом согласно классической теории К. Левина и эффекту Зейгарник напряженность, возникшая в начале действия, не разряжается при неполном его завершении, что является дополнительной эмоциональной нагрузкой.

Процедура стресс-теста занимала примерно 5 минут. Перед началом, а также через час после окончания стресс-теста у испытуемых забирали кровь из вены для клинического и биохимических анализов. Клинический анализ крови включал определение содержания эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов; процентного содержания от общего числа лейкоцитов - лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, эозинофилов; уровень гемоглобина. В сыворотке крови определяли содержание глюкозы, мочевины, билирубина, холестерина, креатинина, триглицеридов; активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ). Кроме того, определяли содержание кортизола, АКТГ, провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α , нейротрофина BDNF.

4.4 Работа с биоматериалом: экспериментальная часть работы

Подготовка биоматериала от животных. После окончания второго этапа теста «вынужденное плавание» крыс вынимали из цилиндра с водой, обсушивали, взвешивали и декапитировали. Время между последним тестом «вынужденное плавание» и декапитацией для всех крыс составляло 30-40 минут. Кровь собирали и центрифугировали при 1500 g в течение 15 мин для получения сыворотки. Мозг вынимали, промывали в ледяном изотоническом растворе, выделяли кору больших полушарий (БП), фронтальную кору (ФК) и гиппокамп из правого и левого полушария по-отдельности. ФК отделяли согласно координатам атласа Paxinos: наиболее фронтально расположенные 2-2,5 мм ткани без обонятельных луковиц. Структуры мозга замораживали в жидком азоте и хранили при -85°C до использования.

Для проведения биохимических анализов в структурах мозга кору БП и гиппокамп гомогенизировали в 20 mM HEPES (pH 7,5), содержащем ингибиторы протеаз (по 10 мг/мл аprotинина, пепстатина А и 1 mM фенилметилсульфонилфторида). Для получения супернатантов гомогенаты центрифугировали 30 мин при 13000g при 4°C . Аликвоты супернатантов хранили при -85°C до проведения биохимических исследований.

Кортикостерон в крови и структурах мозга. Для определения уровня кортикостерона в сыворотке (или плазме для крови из хвостовой вены) крови и супернатантах гомогенатов структур мозга использовали наборы для иммуноферментного анализа (DRG, Германия), с помощью которых детектировали суммарный кортикостерон методом конкурентного ИФА. Определение содержания кортикостерона проводили согласно протоколу используемого коммерческого набора.

Глюкоза в сыворотке крови. Содержание глюкозы в сыворотке крови крыс определяли спектрофотометрическим методом с использованием коммерческого реактива «Glucose» (BioSystems, Испания). Данный реактив предназначен для определения глюкозы в условиях клинической лаборатории, мы адаптировали его для наших задач. Метод основан на последовательной работе ферментов глюкозооксидазы (образование глюконата и перекиси водорода из глюкозы в присутствии кислорода) и пероксидазы (образование окрашенного продукта хинонимина из 4-аминоантипирина и фенола в присутствии перекиси водорода). В лунки 96-луночного планшета вносили по 2 мкл исследуемых образцов и по 200 мкл коммерческого реактива. Инкубировали 20 минут при 37°C при перемешивании, определяли оптическую плотность на мультифункциональном плащечном ридере Wallac 1420 (Percin Elmer, Finland) при длине волны 505 нм.

Нейротрофический фактор BDNF в сыворотке крови и структурах мозга. Для определения уровня BDNF в сыворотке крови и структурах мозга крыс использовали наборы для иммуноферментного анализа (Millipore, Германия). Определение содержания BDNF проводили согласно протоколу используемого коммерческого набора.

Нейротрофический фактор NGF в структурах мозга. Для определения уровня NGF в структурах мозга крыс использовали наборы для неконкурентного иммуноферментного анализа (Millipore, Германия). Нейротрофический фактор NGF в сыворотке крови не детектировали. Определение содержания NGF проводили согласно протоколу используемого коммерческого набора.

ФНО α в плазме крови из хвостовой вены. Определение содержания ФНО α в плазме крови проводили с помощью коммерческих наборов PeproTech (США) согласно инструкции производителя.

Цитокины в крови и структурах мозга. С помощью метода биоплекс-анализа определяли содержание в сыворотке крови и структурах мозга крыс интерферон γ (ИФ γ), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), фактор некроза опухоли α (ФНО α), интерлейкины (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12p70). Для определения использовали наборы для мультиплексного иммуноферментного анализа (Bio-Plex Pro Rar Cytokine Th1/Th2 Assay, Bio-Rad, США), согласно инструкции производителя. Измерение проводили на мультиплащечном флюориметре Bio-Plex 200 System (BioRad, США).

Экспрессия мРНК ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α в структурах мозга. Относительный уровень экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов определяли с помощью метода ПЦР «в реальном времени». Структуры мозга гомогенизировали в реактиве для выделения РНК ExtractRNA (Евроген, Россия), выделяли фракцию тотальной РНК по протоколу, рекомендованному производителем. Для длительного хранения, осаждали РНК в 80% растворе этилового спирта. Выделенную тотальную РНК очищали от ДНК с помощью ДНКазы (набор DNAaseI, Thermo Fisher, США). Далее для половины каждой пробы проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора MMLV RT kit (Евроген, Россия) и ингибитора РНКаз RNase Inhibitor (NEB, США), в соответствии с рекомендациями производителей. Для реакции обратной транскрипции использовали эквимольярную смесь случайного декапраймера (SB002, Евроген, Россия) и Олиго(dT)15 праймера (SB001, Евроген, Россия), концентрация каждого типа праймеров в реакционной системе составляла 1 мкМ. Вторую половину каждой пробы (после обработки ДНКазой) использовали в качестве отрицательного контроля для исключения геномной ДНК. Анализ проводили на приборе Applied Biosystems 7500 (Thermo Fisher, США) и реактива qPCRmix-HS SYBR+LowROX" (Евроген). В качестве гена сравнения

использовали ген Hprt1. Праймеры для гена ИЛ-1 β : 5'-tcc-atg-agc-ttt-gta-caa-gg-3' (прямой), 5'-ggg-gct-gat-gta-cca-gtt-gg-3' (обратный); праймеры для гена ИЛ-6: 5'-tag-agt-cac-aga-agg-agt-gg-3' (прямой), 5'-gcc-agt-tct-tcg-tag-aga-ac-3' (обратный); праймеры для гена ФНО α : 5'-aaa-tgg-gct-ccc-tct-cat-ca-3' (прямой), 5'-agc-ctt-gtc-cct-tga-aga-ga-3' (обратный). Относительную представленность транскриптов оценивали по методу ЕД Δ Сt, данные на графиках представлены в виде RQ.

4.5 Работа с биоматериалом: клиническая часть работы

Подготовка биоматериала от людей. Кровь из вены отбирали непосредственно перед началом стресс-теста, а также через 60 минут после его окончания. Забор венозной крови для клинического анализа крови производили в пробирки S-Monovette без активатора свертывания, анализ проводили сразу после отбора биоматериала. Забор венозной крови для биохимических и иммуноферментных анализов производили в пробирки S-Monovette с активатором свертывания. Кровь охлаждали и центрифугировали при 4 $^{\circ}$ C при 2000g, до проведения биохимических исследований хранили при -20 $^{\circ}$ C (не более 1 месяца).

Клинический анализ крови. Клинический анализ крови проводился на гематологическом анализаторе COULTER $^{\circ}$ LH 500 (BeckmanCoulter, США) или Medonic M 20 (BouleMedical A.B., Швеция) согласно инструкции производителя. Определяли следующие показатели: содержание эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов; процентное содержания от общего числа лейкоцитов - лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, эозинофилов; уровень гемоглобина.

Расширенный биохимический анализ сыворотки крови. Расширенный биохимический анализ проводили с помощью наборов Biosystems S.A. (Испания) на автоматическом биохимическом анализаторе А-25 (Biosystems S.A., Испания) согласно инструкции производителя. Биохимический анализ крови включал следующие показатели: содержание глюкозы, мочевины, билирубина, холестерина, креатинина, триглицеридов; активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ).

Кортизол в сыворотке крови. Определение кортизола в сыворотке крови людей проводили с помощью наборов для иммуноферментного анализа (BECKMAN COULTER, США). Детектировали суммарный кортикостерон методом конкурентного ИФА. Определение содержания кортикостерона проводили согласно протоколу используемого коммерческого набора.

АКТГ в сыворотке крови. Определение уровня АКТГ в сыворотке крови людей проводили с помощью наборов для иммуноферментного анализа (BIOMERICA, Германия).

Нейротрофический фактор BDNF в сыворотке крови. Содержание BDNF в сыворотке крови определяли с помощью наборов для неконкурентного иммуноферментного анализа (Millipore, Германия) согласно инструкции производителя.

Провоспалительные цитокины в сыворотке крови. Содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α в сыворотке крови определяли с помощью наборов для неконкурентного иммуноферментного анализа (Вектор-Бест, Россия) согласно инструкции производителя.

4.6 Статистическая обработка данных

Для оценки межгрупповых различий мы использовали тест Стьюдента для независимых переменных при оценке показателей с нормально распределенными значениями или U-критерий Манна-Уитни, если данные не соответствовали нормальному распределению (оценивали по тесту Колмогорова-Смирнова). Парное сравнение групп по U-критерию Манна-Уитни проводили после подтверждения достоверности различий с помощью теста Краскела-Уоллиса. В клинической части работы для оценки достоверности стресс-индуцированных изменений мы применяли t-критерий Стьюдента. При оценке изменения времени пассивного плавания у крыс до и после ХНС мы применяли t-тест Вилкоксона и статистический пакет ANOVA. На графиках в разделе «Результаты исследования» представлены средние значения показателей по группам, в качестве ошибок отображены значения стандартной ошибки среднего (SEM). В заключение клинической части работы выполнили оценку каждого показателя как возможного маркера тревожно-депрессивной симптоматики с помощью множественной логистической регрессии. Все вычисления проводили с помощью пакетов `pandas`, `scipy.stats`, `numpy` и `patsy` программируемого языка `python`, с помощью программы Statistica или встроенных функций MS Excel.

5 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

5.1 Сравнение валидности тестов «вынужденное плавание» и «предпочтение раствора сахарозы» на модели депрессии, индуцированной ХНС

Тест «вынужденное плавание» является одним из самых популярных тестов для выявления депрессивно-подобного поведения у грызунов и для проверки антидепрессантных свойств препаратов. Повышенная доля пассивного плавания во второй день теста трактуется как «отказ от борьбы» и «поведение отчаяния» (Yacoubi and Vaugeois, 2007). Другой популярный тест для выявления депрессивно-подобного поведения – тест на предпочтение раствора сахарозы. Отсутствие предпочтения раствора сахарозы обычной воде трактуется как ангедония (Willner *et al.*, 1987; Papp, Willner and Muscat, 1991; De La Garza, 2005; Bergström *et al.*, 2008).

Для сравнения этих тестов в способности выявления депрессивно-подобного поведения мы провели отдельный эксперимент, независимый от основного эксперимента по изучению отсроченных последствий НПС. Для этого эксперимента осуществили предварительный отбор животных со средним уровнем потребления раствора сахарозы, затем половина животных была подвергнута ХНС. Тест «вынужденное плавание» проводили до и после ХНС, что позволило нам оценить изменение показателей у конкретных животных. Крыс контрольной группы также тестировали дважды через такой же интервал времени, как и крыс группы ХНС. Крыс контрольной группы в течение всего времени содержали в клетках по 4-5 особей. Мы не выявили разницу во времени пассивного плавания на второй день тестирования между животными контрольной группы во время повторного тестирования и животными, перенесшими ХНС (Рисунок 4). Однако у крыс после ХНС время пассивного плавания было достоверно ниже, чем у тех же животных до ХНС, при этом у крыс контрольной группы не выявили разницу по времени пассивного плавания на второй день теста между первым и повторным тестированием (Рисунок 4). При статистическом анализе с помощью пакета ANOVA с двумя факторами («группа» - наличие/отсутствие ХНС, и «временная точка» - первое или второе проведение теста «вынужденное плавание») не выявили влияния фактора «группа»

($p=0,09$), выявили тенденцию влияния фактора «временная точка» ($p=0,06$), не выявили влияния пересечения факторов ($p=0,6$). Время латентного периода до первого эпизода зависания в воде при первом (до ХНС) проведении теста «вынужденное плавание» составило 52 сек (SEM=9) в контрольной группе и 45,6 сек (SEM=3,6) - в группе ХНС. Время латентного периода до первого эпизода зависания в воде при повторном (после ХНС) проведении теста «вынужденное плавание» составило 65 сек (SEM=8,1) в контрольной группе и 57,8 сек (SEM=9,3) - в группе ХНС. Не выявили статистически значимых различий по этому показателю как при межгрупповом сравнении, так и при сравнении повторных измерений в каждой из групп. Если рассматривать тест «вынужденное плавание» как неассоциативное обучение (привыкание), то пассивное поведение более предпочтительно, чем активное. То есть крысы, не перенесшие ХНС, лучше адаптировались к ситуации неизбежного стресса, быстрее переключаясь на пассивную стратегию поведения.

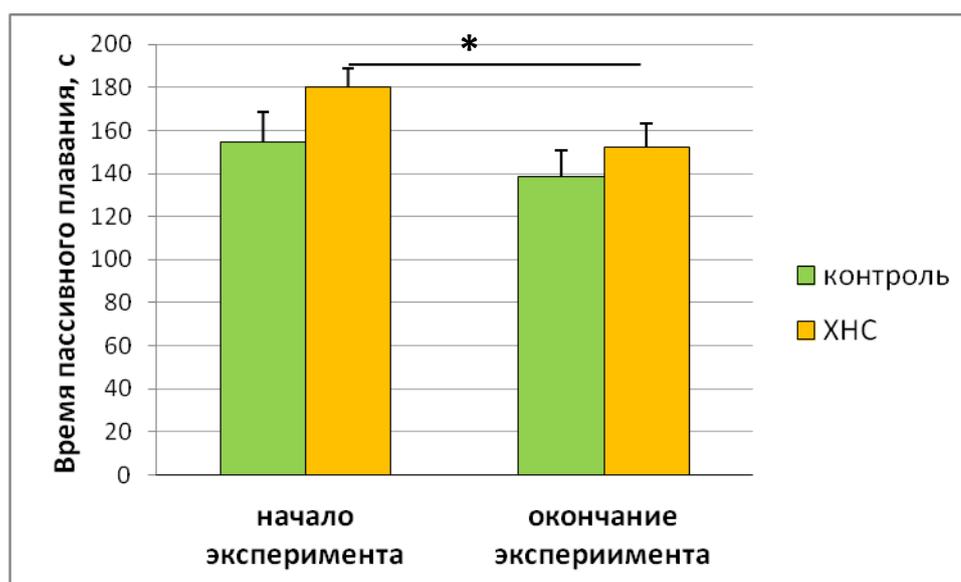


Рисунок 4. Время пассивного плавания крыс в тесте "вынужденное плавание" до и после хронического непредсказуемого стресса (ХНС). * - различие между тестами до и после ХНС для одних и тех же животных, $p=0,04$, t -тест для зависимых переменных. $N=52$.

Классический вариант проведения теста на предпочтение раствора сахарозы проводится в течение одного часа, однако, с помощью такого варианта проведения депрессивно-подобное поведение зачастую не выявляют (Kentner *et al.*, 2010; Snyder *et al.*, 2011), поэтому в конце последней недели ХНС мы провели тест на предпочтение раствора сахарозы в течение 48 часов. В коротком варианте теста (предъявление раствора сахарозы в течение 1 часа) мы также не

выявили различий между группами. Тем не менее, при длительном предъявлении раствора сахарозы крысы контрольной группы статистически значимо больше предпочитают его воде, чем животные после ХНС (Рисунок 5).

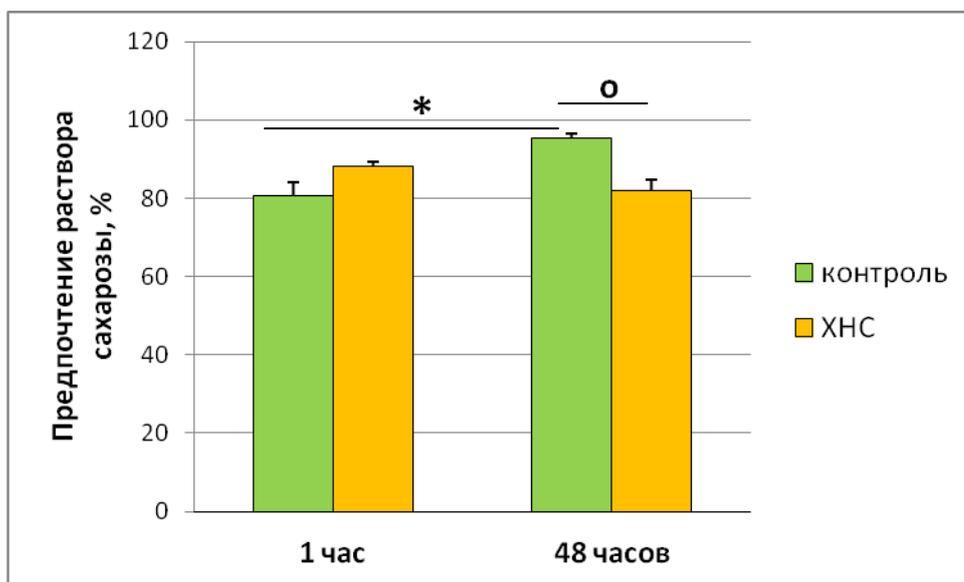


Рисунок 5. Потребление раствора сахарозы в процентах от общего потребления жидкости. Тест "1 час" проводили в конце 7-ой недели ХНС, тест "48 часов" – в конце 8-ой недели ХНС. * - различие между тестами до и после ХНС для одних и тех же животных, $p=0,0005$, t -тест для зависимых переменных. o – различие между группой контроля и животными после ХНС, $p<0.0001$, U -критерий Манна-Уитни. $N=52$.

Уровень предпочтения сахарозы при коротком (в течение часа) варианте теста у крыс групп контроля и ХНС статистически не различается. Тем не менее, при длительном варианте теста, крысы контрольной группы начинают достоверно больше предпочитать сахарозу обычной воде, а крысы после ХНС – нет. Следовательно, по результатам поведения животных в длинном варианте теста, мы с уверенностью можем утверждать о влиянии ХНС в виде снижения предпочтения раствора сахарозы, что обычно трактуется как один из признаков депрессивно-подобного поведения - ангедонии. Таким образом, сравнив тесты «вынужденное плавание» и «предпочтение раствора сахарозы» на модели хронического непредсказуемого стрессора у крыс, мы обнаружили, что тест на предпочтение раствора сахарозы является более чувствительным и, возможно, более валидным для подтверждения формирования депрессивно-подобного поведения.

5.2 Формирование тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс после НПС

Для верификации модели индукции тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс путем неонатального провоспалительного стресса, тестировали поведение животных в возрасте 3 месяца. Часть тестов обладают стрессорным эффектом (данные приведены в разделе «методы»), поэтому суммарное воздействие этих тестов считали субхроническим стрессом. Чтобы оценить исходный уровень показателей и реакцию на субхронический стресс, половину экспериментальных и контрольных животных тестам не подвергали. Животные после НПС и животные контрольной группы в возрасте 3 месяца проходили следующие тесты: тест «открытое поле», тест «приподнятый крестообразный лабиринт», тест «выработка условно-рефлекторного замирания», тест на предпочтение раствора сахарозы, тест «вынужденное плавание». Для оценки динамики развития тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс после НПС часть животных тестировали в возрасте 1 месяц в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «вынужденное плавание», после чего этих животных выводили из эксперимента.

Тест «открытое поле». При анализе результатов этого теста, оценивали четыре показателя: общее пройденное расстояние; число стоек без опоры; число выходов в центр; время, проведенное в центре.

Двигательная активность неонатально стрессированных крыс и контрольных животных не отличалась ни в одной возрастной группе, поэтому снижение числа выходов в центр, вертикальных стоек и длины пройденной дистанции указывает на боязнь открытого пространства, снижение исследовательской мотивации. Такое поведение интерпретировали как увеличение уровня тревожности животных.

У ювенильных крыс после НПС в возрасте 1 месяц выявили тревожное поведение. В тесте «открытое поле» ювенильные крысы после НПС достоверно меньше, чем крысы контрольной группы, времени проводили в центре поля (41% относительно среднего уровня контрольной группы, $p=0,01$ по U-критерию Манна-Уитни), а также демонстрировали практически полное отсутствие числа стоек без опоры (среднее значение в группе крыс после НПС 0,11 стоек, а в контрольной группе – 2,3 стойки, $p=0,03$).

У взрослых крыс после НПС мы получили статистически значимые результаты по двум показателям: уменьшение числа выходов в центр и пройденного расстояния (Рисунок 6).

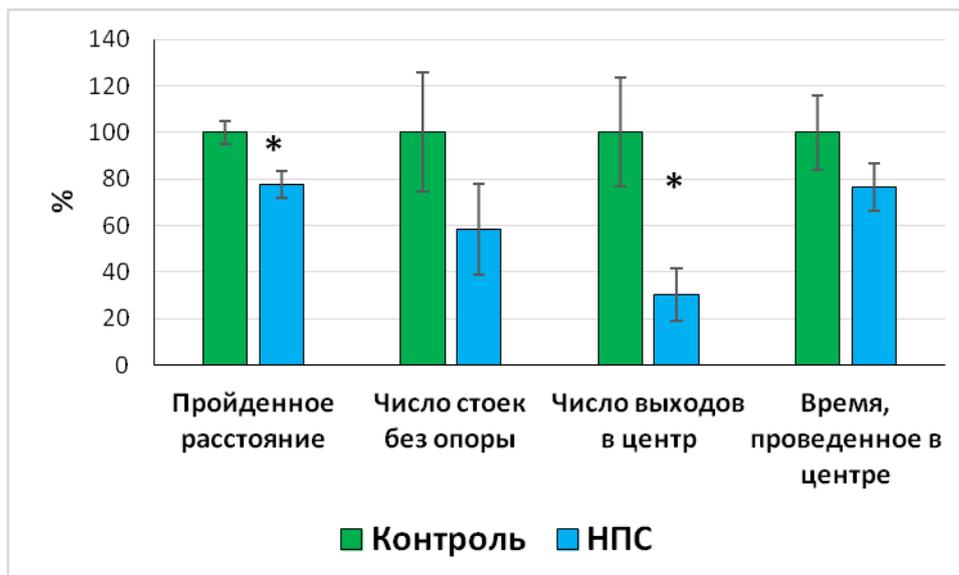


Рисунок 6. Тест «открытое поле». Сравнение показателей теста у животных после НПС и контрольной группы в возрасте 3 месяца. Данные представлены в процентах от среднего уровня контрольной группы. * отличие экспериментальной группы от контрольной одного возраста, $p < 0,05$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=21$ (контроль - 9, НПС - 12).

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт».

В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» не выявили различий в поведении контрольных животных и крыс после НПС в возрасте 1 месяц.

Взрослые неонатально стрессированные крысы значительно больше времени проводили в закрытых рукавах лабиринта, реже выходили из них. При проведении этого теста мы измеряли следующие показатели: время в открытых рукавах, число входов в открытые рукава и число входов в закрытые рукава. Все эти показатели снижены у 3-месячных животных экспериментальной группы в сравнении с контролем (Рисунок 7). Кроме того, мы измеряли время, проведенное животными в центре лабиринта. По этому показателю группы не различались (Рисунок 5).

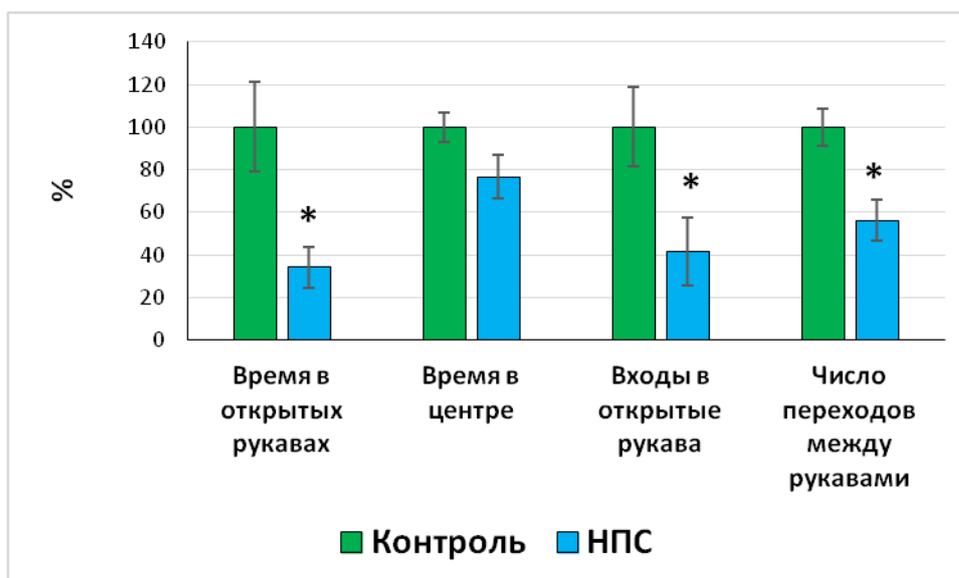
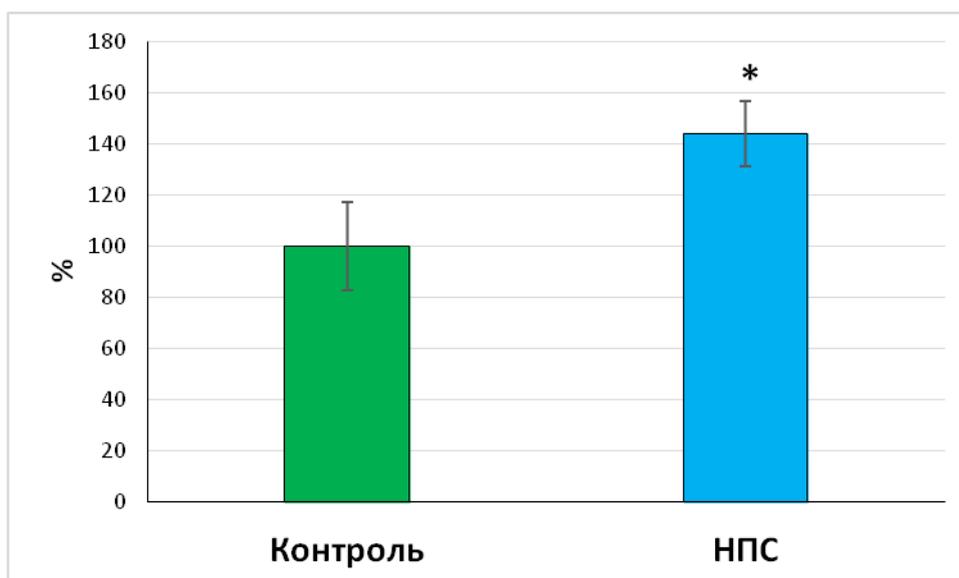


Рисунок 7. Тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Сравнение показателей теста у животных после НПС и контрольной группы в возрасте 3 месяца. Данные представлены в процентах от среднего уровня контрольной группы. * отличие экспериментальной группы от контрольной одного возраста, $p < 0,05$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=21$ (контроль - 9, НПС - 12).

Тесты «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» позволяют оценить тревожность животных (Pellow *et al.*, 1985; Hogg, 1996; Boguszewski and Zagrodzka, 2002; Andrade *et al.*, 2003). В литературе есть множество данных по влиянию НПС на тревожность взрослых животных. Данные зачастую противоречивые: в некоторых тестах у взрослых крыс после НПС тревожность выявляется, в некоторых – нет. По-видимому, выявление тревожности во многом зависит от возраста тестирования животных и от условий проведения НПС (Boguszewski and Zagrodzka, 2002; Breivik *et al.*, 2002). В нашем эксперименте мы выявили более высокую тревожность у экспериментальных животных в обоих тестах: снижение пройденного расстояния, времени, проведенного в центре поля, и числа выходов в центр открытого поля, а также снижение времени, проведенного в открытых рукавах лабиринта, уменьшение числа переходов между рукавами и входов в закрытые рукава ПКЛ четко указывают на повышенный уровень тревоги и сниженный уровень исследовательской активности у крыс, перенесших НПС. Повышенную тревожность в тестах «открытое поле» и «ПКЛ» у крыс после НПС выявляли ранее в других исследованиях (Breivik *et al.*, 2002; Walker, March and Hodgson, 2004; Walker *et al.*, 2009; L. Sominsky *et al.*, 2012). Хотя некоторые исследователи повышенную тревожность у крыс после НПС в этих тестах не обнаруживали (Walker, Knott and Hodgson, 2008). То есть НПС не всегда вызывает исходно повышенную тревожность у взрослых крыс, в некоторых случаях повышенная тревожность у взрослых крыс

после НПС проявляется только после дополнительной стрессорной нагрузки (Walker, Knott and Hodgson, 2008).

Тест «выработка условно-рефлекторного замирания» (УР). В первый день обучения время замирания в межстимульные интервалы увеличивалось во второй и третий интервалы в сравнении с первым интервалом – как в контрольной, так и в экспериментальной группе. То есть по результатам выработки условно-рефлекторного замирания неонатальный стресс не влиял на формирование условного рефлекса при предъявлении болевого стимула. Тем не менее, во второй день оценке влияния контекста обнаружили, что процент времени замирания достоверно больше у крыс экспериментальной группы (Рисунок 8). В третий день тестирования реакции на условный стимул не выявили различий между группами.



*Рисунок 8. Тест «выработка условно-рефлекторного замирания». Тестирование выработки рефлекса условного замирания в знакомом контексте на следующий день после обучения. Данные представлены в процентах от времени замирания контрольной группы. * отличие экспериментальной группы от контрольной, $p=0,04$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=21$ (контроль - 9, НПС – 12).*

В тесте «выработка условно-рефлекторного замирания» мы не обнаружили влияния НПС на процесс формирования условного рефлекса в первый день обучения, а также на влияние условного стимула (звука). Однако мы показали, что у неонатально стрессированных крыс по сравнению с контрольными достоверно больше время замирания в стрессорном контексте при тестировании сохранения следа памяти. Это может указывать как на различия в формировании следа памяти между контрольными животными и крысами после НПС, так и

быть проявлением общего увеличения тревожности крыс после НПС. Аналогичные результаты были получены другими исследователями для ювенильных животных. Нарушение контекстуальной памяти в тесте выработки условно-рефлекторного замиранья проявлялось у крыс после НПС в возрасте 1 месяц (Wilbo *et al.*, 2006). Есть данные, что во взрослом возрасте нарушения формирования памяти у интактных животных можно выявить только после дополнительной провоспалительной индукции, введением ЛПС (Staci D. Wilbo *et al.*, 2005; Wilbo *et al.*, 2006). Этот эффект опосредуется ИЛ-6 и блокируется введением крысам ингибитора каспазы-1 непосредственно перед введением ЛПС (S. D. Wilbo *et al.*, 2005).

Тест на предпочтение раствора сахарозы. Тест на предпочтение раствора сахарозы проводили дважды: в исходном состоянии и после выработки УР-замиранья. В обоих случаях экспозицию раствора сахарозы проводили в течение одного часа. В первый день проверки предпочтения раствора сахарозы в исходном состоянии не выявили различий между группами (Рисунок 9). Во второй день проверки, которую проводили после стрессорного стимула (в качестве стрессорного стимула использовали стрессорный контекст теста УР замиранья), выявили достоверное более низкое предпочтение раствора сахарозы воде крысами после НПС в сравнении с контрольной группой.

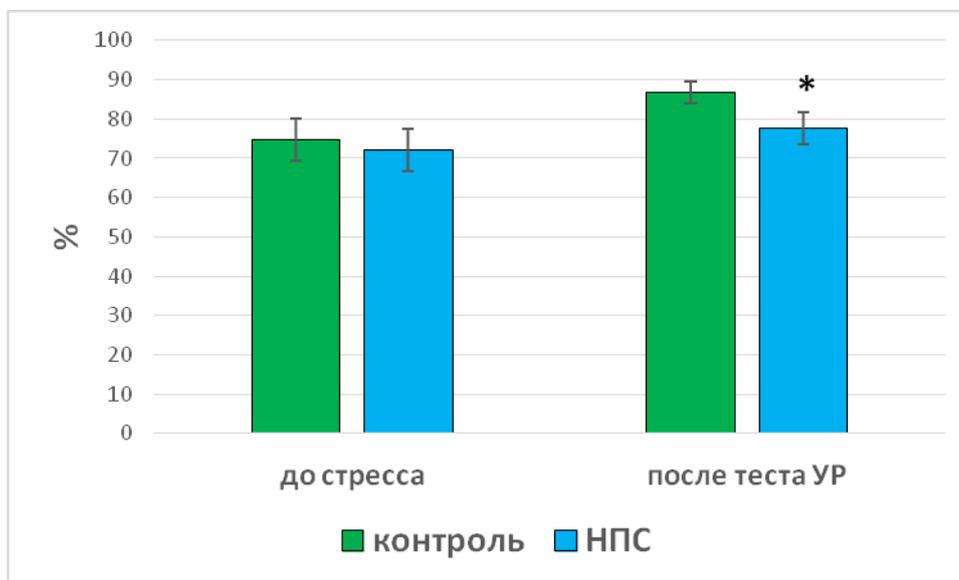


Рисунок 9. Тест на предпочтение раствора сахарозы. Потребление раствора сахарозы в процентах от общего потребления жидкости. * отличие экспериментальной группы от контрольной, $p=0,04$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=21$ (контроль - 9, НПС - 12).

Валидность применения теста на предпочтение раствора сахарозы для выявления депрессивно-подобного поведения у крыс в различных моделях депрессии подтверждена многочисленными исследованиями (Willner *et al.*, 1987; Papp, Willner and Muscat, 1991; De La Garza, 2005; Bergström *et al.*, 2008). Тем не менее, этот тест не всегда выявляет депрессивно-подобные изменения без дополнительного стрессорного воздействия (Kentner *et al.*, 2010; Snyder *et al.*, 2011). Мы также не получили различий в потреблении сахарозы в исходном состоянии. Тем не менее, после дополнительной стрессорной нагрузки потребление сахарозы у контрольных животных было достоверно выше, чем у крыс после НПС. Предпочтение раствора сахарозы в исходном состоянии измеряли до проведения тестирования поведения. Повторную проверку осуществляли на следующий день после выработки рефлекса УР замирания, сразу после тестирования влияния контекста. То есть в качестве стрессорного воздействия выступили эффект повторяющегося стрессорного воздействия, так как тест «открытое поле» и выработка УР замирания обладают стрессорным эффектом, и дополнительно - помещения в клетку, в которой животных накануне били током. Увеличение потребления сахарозы в стрессорных условиях – нормальная реакция, которую продемонстрировали животные контрольной группы. Отказ от сахарозы неонатально стрессированными крысами указывает на депрессивно-подобное поведение, выраженное в ангедонии.

Тест «вынужденное плавание». В тесте вынужденного плавания крыс подвергали двукратному неизбежному стрессу. Поведение контрольных и экспериментальных крыс в возрасте 1 месяц не различалось ни в первый, ни во второй день теста. Время пассивного плавания в первый день тестирования в первые 5 минут составило в контрольной группе 92,3 сек (SEM=12,8), в экспериментальной – 81 сек (SEM=11), р-значение 0,7 (по U-критерию Манна-Уитни). Время латентного периода до первого эпизода замирания в первый день теста составило 85,1 сек (SEM=28,8) в контрольной группе и 74,7 сек (SEM=30,4) в экспериментальной группе, р-значение 0,7 (по U-критерию Манна-Уитни). Время пассивного плавания во второй день тестирования составило в контрольной группе 139,3 сек (SEM=16,2), в экспериментальной – 172,6 сек (SEM=11,4), р-значение 0,09 (по U-критерию Манна-Уитни). Время латентного периода до первого эпизода замирания во второй день теста составило 37,8 сек (SEM=36,2) в контрольной группе и 19,1 сек (SEM=6,7) в экспериментальной группе, р-значение 0,08 (по U-критерию Манна-Уитни).

На первом этапе тестирования, поведение взрослых животных контрольной и экспериментальной групп не различалось: время пассивного плавания в первые 5 минут составило в контрольной группе 57,2 сек (SEM=14,4), в экспериментальной – 48,9 сек (SEM=14), р-значение 0,5 (по U-критерию Манна-Уитни). Время латентного периода до

первого эпизода замирания в первый день теста составило 96,8 сек (SEM=20,6) в контрольной группе и 72,9 сек (SEM=9,5) в экспериментальной группе, р-значение 0,35 (по U-критерию Манна-Уитни). Время пассивного плавания во второй день тестирования составило в контрольной группе 92 сек (SEM=6,7), в экспериментальной – 116,2 сек (SEM=12,3, р-значение = 0,03, по U-критерию Манна-Уитни). Время латентного периода до первого эпизода замирания во второй день теста составило 63,9 сек (SEM=4,8), в экспериментальной – 41,9 сек (SEM=6,6, р-значение = 0,055, по U-критерию Манна-Уитни). То есть во второй день теста крысы после НПС демонстрировали достоверное меньшее время активного плавания (Рисунок 10), что, как правило, трактуется как поведение отчаяния.

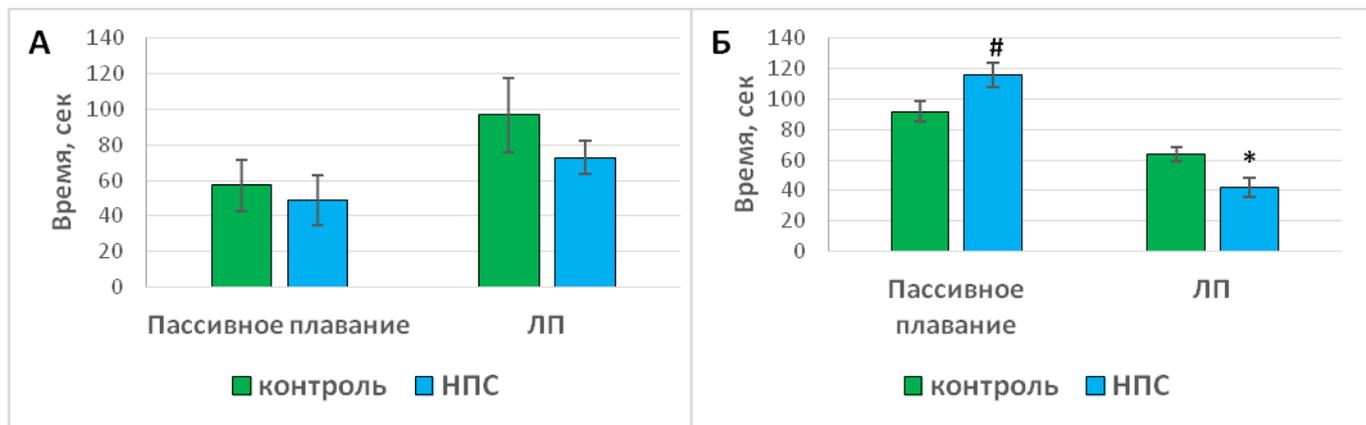


Рисунок 10. Тест «вынужденное плавание» в группах крыс в возрасте 3 мес. А – данные по первому дню теста, время пассивного плавания дано для первых 5 минут; Б – данные по второму дню теста. ЛП – латентный период до первого эпизода зависания в воде. *, # отличие экспериментальной группы от контрольной одного возраста, где * $p=0,03$, # $p=0,05$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=21$ (контроль - 9, НПС – 12).

В нашем эксперименте взрослые крысы после НПС демонстрировали достоверное большее время пассивного плавания и тенденцию к снижению времени латентного периода до первого зависания в воде. То есть, согласно классическим представлениям, крысы, перенесшие НПС, практически сразу переставали бороться за выживание, выбирая пассивную тактику. Так как данное изменение поведения проявляется только на втором этапе теста, то можно говорить, что в процессе проведения теста вынужденного плавания у крыс экспериментальной группы сформировался комплекс «выученной беспомощности». С нашей точки зрения, меньшая доля активного плавания указывает не на отчаяние крыс, а на переключение на пассивную стратегию поведения, на адаптацию к условиям эксперимента. Кроме того, более низкая активность во второй день теста может быть связана со стрессорным влиянием предыдущего дня, в таком

случае крысы после НПС, возможно, обладают большей стресс-реактивностью по сравнению с крысами контрольной группы. Большинство исследователей, использующих модель НПС, у взрослых животных тестируют главным образом тревожное поведение. Тем не менее, при аналогичном дизайне постановки НПС сходные результаты были получены на мышах. Мыши обоих полов после НПС демонстрировали значительное увеличение по сравнению с контролем времени неподвижности в воде во время проведения теста вынужденного плавания (при проведении теста в один этап) (Doosti *et al.*, 2013). Некоторые авторы показывают симптоматику «выученной беспомощности» у крыс после НПС по пониженной по сравнению с контролем двигательной активности во время 30-минутного сеанса иммобилизационного стресса (A. K. Walker, Nakamura and Hodgson, 2010).

Таким образом, мы показали значительное влияние неонатального провоспалительного стресса на уровень тревожности, депрессивно-подобные изменения поведения, а также некоторое влияние на контекстуальную память взрослых крыс. После подтверждения формирования тревожно-депрессивного поведения путем НПС, мы перешли к оценке функционально-биохимического статуса экспериментальных животных.

5.3 Влияние НПС на функциональное состояние ГГНС, систем провоспалительных цитокинов и нейротрофинов у взрослых крыс

У крыс контрольной и экспериментальной группы оценивали активность ГГНС, системы нейротрофических факторов и системы цитокинов. Биоматериал от крыс, не проходивших поведенческие тесты, использовали для оценки исходного уровня активности систем. После окончания тестирования поведения, через 30-40 минут после теста «вынужденное плавание» крыс декапитировали и забирали биоматериал для оценки уровня показателей после окончания стрессорного воздействия. Тест «вынужденное плавание» используют в качестве стрессорного воздействия, так как он вызывает значимое увеличение кортикостерона в крови (De La Garza II and Mahoney III, 2004; Hampson *et al.*, 2004). Другие поведенческие тесты, применявшиеся в нашем эксперименте, также обладают стрессорным эффектом, то есть суммарно эти крысы были подвергнуты субхроническому поведенческому стрессу в течение 7 дней. В сыворотке крови и структурах мозга всех животных определяли содержание кортикостерона, BDNF, NGF (только в структурах мозга), целый ряд провоспалительных, противовоспалительных и

модуляторных цитокинов, а также в структурах мозга определяли уровень экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α .

ГГНС. У ювенильных крыс (в возрасте 1 месяц) в плазме крови так же, как и у взрослых животных в сыворотке крови, исходный уровень кортикостерона был повышен в группе НПС, а стресс-индуцированное увеличение кортикостерона произошло только в группе контроля (Рисунок 11). Причем, у ювенильных животных индуцированное НПС депрессивно-подобное поведение отсутствует и тревожное поведение выражено слабее, чем у взрослых животных. То есть НПС индуцирует нарушение функционирования ГГНС в раннем возрасте, которые, по-видимому, могут приводить к серьезным нарушениям поведения во взрослом возрасте.

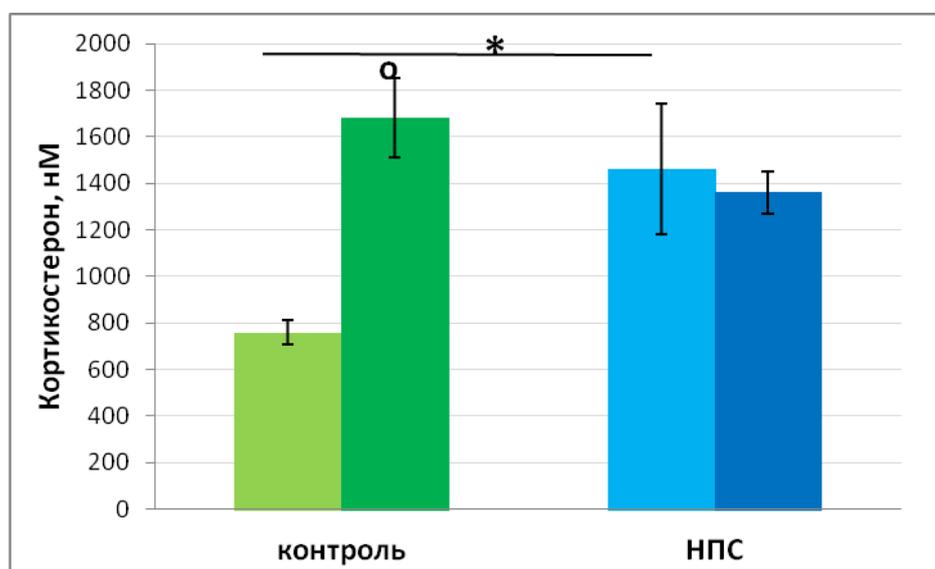


Рисунок 11 Содержание кортикостерона в плазме крови ювенильных крыс после НПС. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль» и «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс» и «НПС+стресс»). * отличие животных после НПС от контрольных, $p=0,005$ по U-критерию Манна-Уитни. o различия по уровню показателя между группой без стрессогенных тестов и группой, прошедшей тестирование поведения. $p=0,02$ по t-тесту для зависимых переменных. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

У взрослых крыс после НПС содержание кортикостерона в крови на 38% выше, чем у животных контрольной группы, а в коре БП - на 95% (Рисунок 12). Во фронтальной коре (ФК) и гиппокампе не выявили различий в содержании кортикостерона между контрольной и экспериментальной группами.

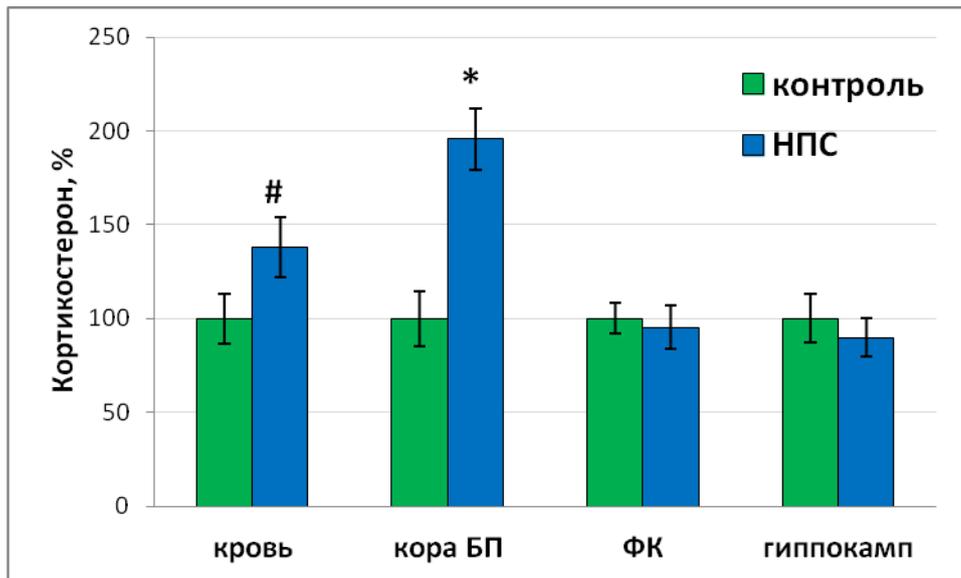


Рисунок 12. Содержание кортикостерона в сыворотке крови и структурах мозга крыс в возрасте 3 месяца после НПС. #, * отличие животных после НПС от контрольных, # $-p=0,08$, * $-p=0,001$ по U-критерию Манна-Уитни.

Повышенный уровень кортикостерона в крови взрослых животных после НПС многократно показывали ранее (Shanks *et al.*, 2000b; Nilsson *et al.*, 2002; Kohman *et al.*, 2008; A. K. Walker, Nakamura and Hodgson, 2010; Walker *et al.*, 2011; L. Sominsky *et al.*, 2012). Это связано с гиперфункцией надпочечников, так как у крыс после НПС повышена частота и амплитуда выбросов кортикостерона в кровь (Shanks *et al.*, 2000b), а размер надпочечников увеличен (Nilsson *et al.*, 2002). Не все исследователи обнаруживают повышенный уровень кортикостерона в крови крыс после НПС (Walker, Hodyl, *et al.*, 2006; Walker, Owens, *et al.*, 2006), сложно сказать, с чем это может быть связано, так как условия формирования НПС и возраст тестирования (85-95 дней) одинаковы во всех случаях. Так как таких работ мало, возможно, это связано с различием генотипов, условий содержания, с незначительными различиями в условиях проведения экспериментальных процедур или с ошибкой малых выборок.

Нормальной реакцией на стрессорное воздействие со стороны ГГНС является повышение уровня кортикостерона в крови. Такой ответ демонстрируют крысы контрольной группы (Рисунок 13). У крыс после НПС при изначально более высоком уровне кортикостерона, не происходит дальнейшего увеличения его уровня после субхронического стрессорного воздействия с помощью тестирования поведения.

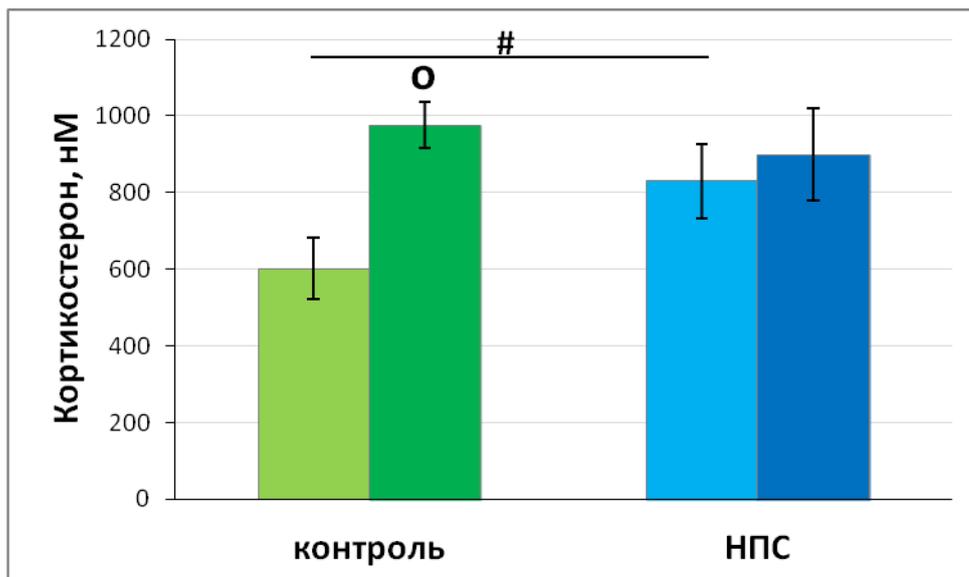


Рисунок 13. Содержание кортикостерона в сыворотке крови взрослых крыс после НПС. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль» и «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс» и «НПС+стресс»). # отличие животных после НПС от контрольных, $p=0,08$ по U-критерию Манна-Уитни. o различия по уровню показателя между соответствующей группой без стрессогенных тестов и группой после них. $p=0,005$, U-критерий Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

Такая картина нарушений прослеживается в коре БП. Содержание кортикостерона у контрольных животных после субхронического стрессорного воздействия было увеличено в коре БП по сравнению с животными, не участвовавшими в тестировании (Рисунок 14). В группе НПС не обнаружили достоверных различий между животными после субхронического стресса и животными, не участвовавшими в тестировании, ни в одной из исследованных структур мозга.

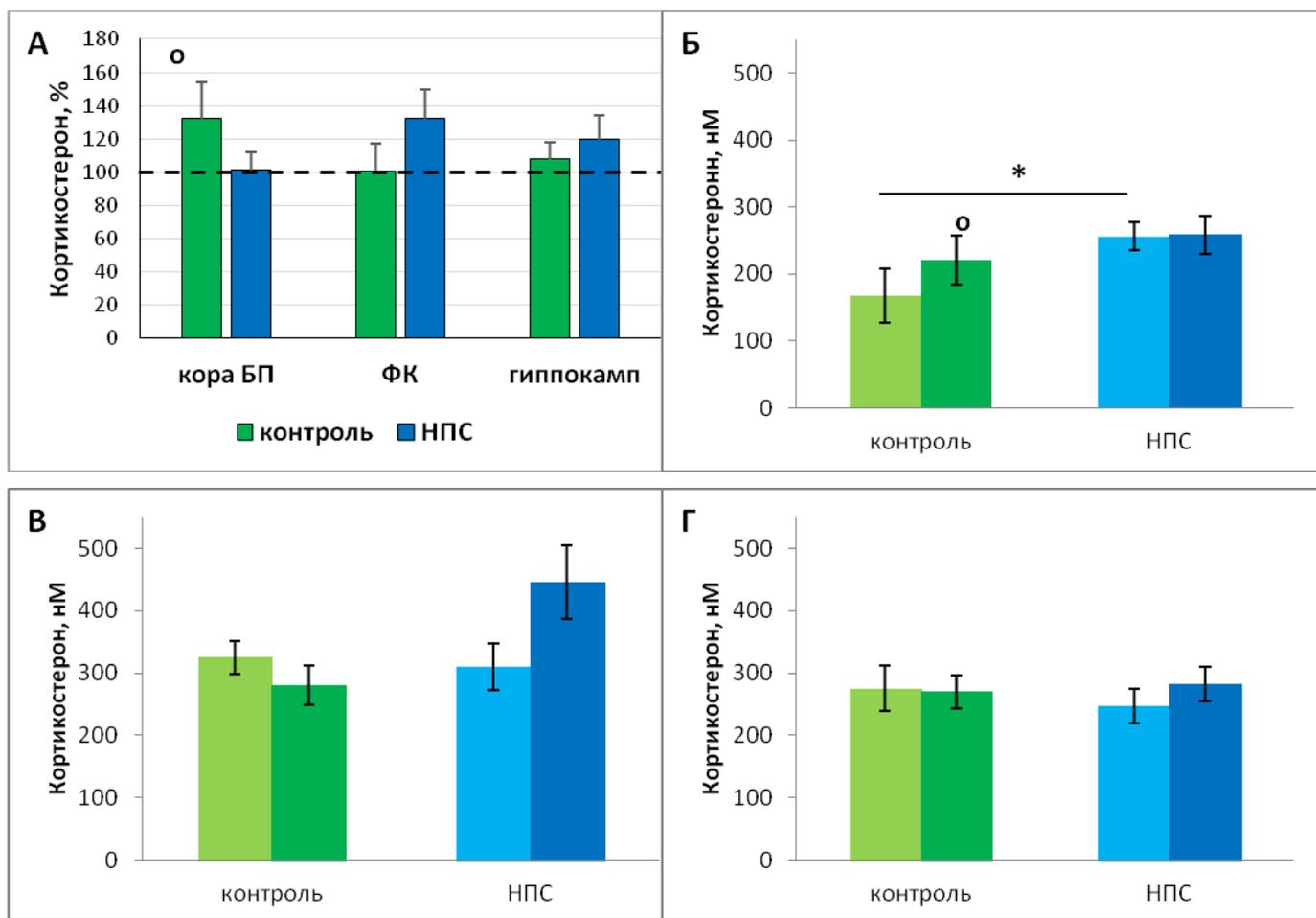


Рисунок 14. Содержание кортикостерона в структурах мозга взрослых крыс после НПС после субхронического стресса. А – во всех исследованных структурах мозга в процентном отношении к среднему уровню кортикостерона в соответствующих группах без поведенческого стресса. Пунктирной линией обозначен уровень показателя в подгруппах без субхронического стресса. Б – в коре БП; В – во фронтальной коре (ФК); Г – в гиппокампе. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль» и «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс» и «НПС+стресс»). о - различия по уровню показателя между группой без стрессогенных тестов и группой, прошедшей тестирование поведения, $p=0,001$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

Реакция на стрессор по уровню кортикостерона в крови у взрослых крыс после НПС проявляется по-разному. Многие исследователи показывают гиперактивацию ГГНС в ответ на острое стрессорное воздействие: шум или стресс иммобилизации (Shanks, Larocque and Meaney, 1995a; Shanks *et al.*, 2000b; Hodgson, Knott and Walker, 2001; Walker, Knott and Hodgson, 2008; A. K. Walker, Nakamura and Hodgson, 2010). Эта реакция имеет ограниченный временной интервал: через 15 минут после стресса различия еще не выявляются (Walker *et al.*, 2009), а через 70-120

минут уже не выявляются (Shanks, Larocque and Meaney, 1995a; Shanks *et al.*, 2000b). В некоторых работах увеличение кортикостерона в крови взрослых крыс после НПС не выявляют совсем (Walker, Hodyl, *et al.*, 2006), в том числе в ответ на провоспалительную индукцию (Kohman *et al.*, 2008). Некоторые авторы выявляют повышенный уровень кортикостерона в крови крыс после НПС в исходном состоянии и меньшее, чем у контрольных животных, увеличение в ответ психо-эмоциональный стресс разной модальности (Nilsson *et al.*, 2002; Walker *et al.*, 2011). В нашей работе в течение нескольких дней крыс подвергали тестированию поведения, некоторые из которых (например, тест «вынужденное плавание» и выработка УР замирания) обладали значительной стрессорной нагрузкой. Мы обнаружили повышенный уровень кортикостерона в крови и коре БП у контрольных животных и отсутствие повышения у животных с тревожным и депрессивно-подобным поведением. Этому может быть несколько объяснений. Есть вероятность, что мы пропустили оптимальную временную точку для измерения, так как уровень кортикостерона через 90 минут после стресса мог снизиться до дострессорного уровня. Возможно, увеличение уровня кортикостерона крови крыс после НПС произошло на более раннем этапе тестирования, и за несколько дней субхронического стресса ГГНС перестала реагировать активацией на очередной стресс.

Нейротрофины. Содержание нейротрофического фактора BDNF определяли в сыворотке и структурах мозга крыс. В сыворотке крови взрослых животных после НПС наблюдали достоверно более низкое, чем в контрольной группе содержание BDNF (**Ошибка! Источник ссылки не найден.**15). При этом не выявили различий концентрации BDNF в сыворотке крови в подгруппах животных после субхронического стресса и животных, не участвовавших в тестировании поведения - ни в одной группе животных.

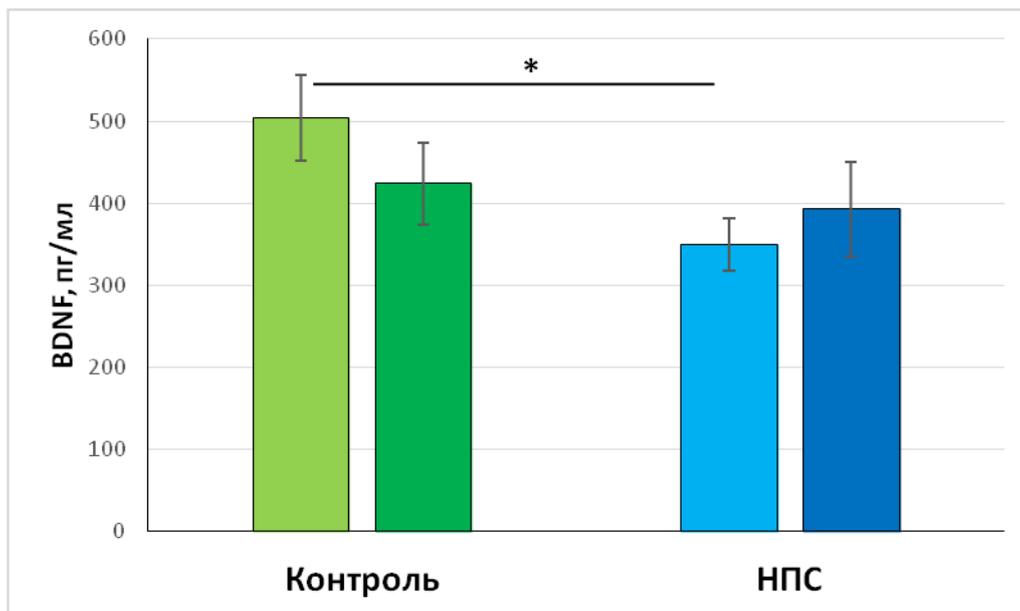


Рисунок 15. Содержание BDNF в сыворотке крови взрослых крыс после НПС. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс», «НПС+стресс»). * отличие экспериментальной группы от контрольной, $p=0,01$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

У крыс после НПС уровень BDNF в коре БП был понижен (Рисунок 16). Уровень этого нейротрофического фактора в гиппокампе и фронтальной коре у крыс после НПС не отличался от группы контроля. Содержание NGF статистически не различалось у контрольных и экспериментальных животных во всех исследованных структурах мозга (Рисунок 17).

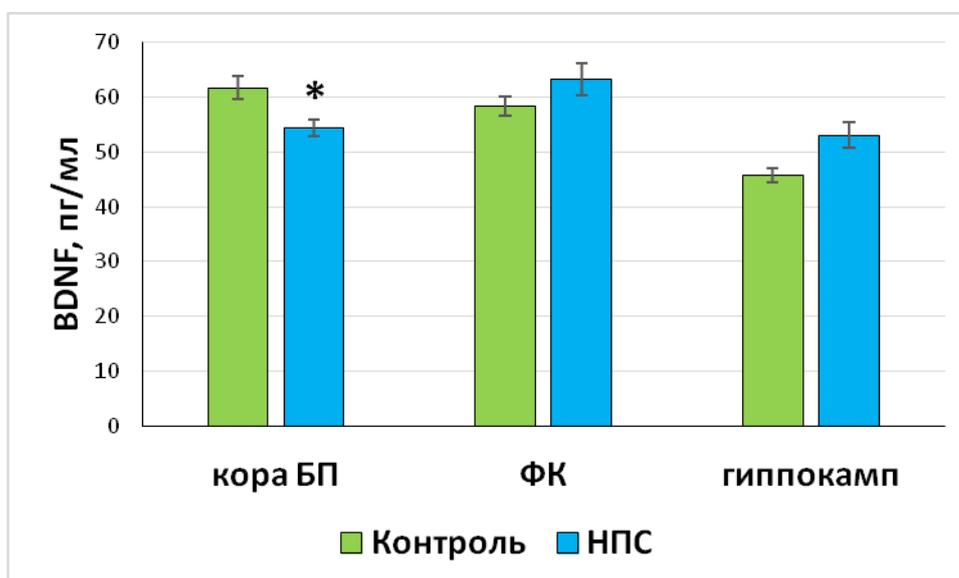


Рисунок 16. Содержание BDNF в структурах мозга взрослых крыс после НПС в подгруппах животных, не участвовавших в тестировании поведения.* отличие экспериментальной группы от контрольной, $p=0,01$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=21$ (контроль – 8, НПС – 13).

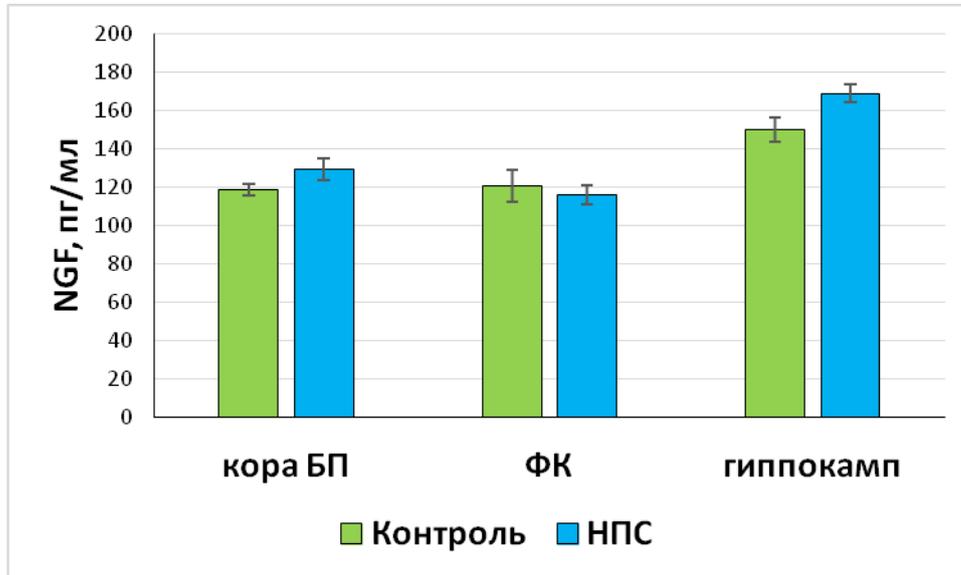


Рисунок 17. Содержание NGF в структурах мозга взрослых крыс после НПС в подгруппах животных, не участвовавших в тестировании поведения. $N=21$ (контроль – 8, НПС – 13).

Реакция системы нейротрофических факторов на субхронический стресс у крыс после НПС и у крыс контрольной группы была различной в исследованных структурах мозга. Более высокий уровень BDNF у крыс после НПС наблюдали только в коре БП. Более высокий уровень BDNF в подгруппе животных после субхронического стресса у животных контрольной группы наблюдали в гиппокампе, во фронтальной коре выявили статистически значимую тенденцию к увеличению уровня BDNF (Рисунок 18).

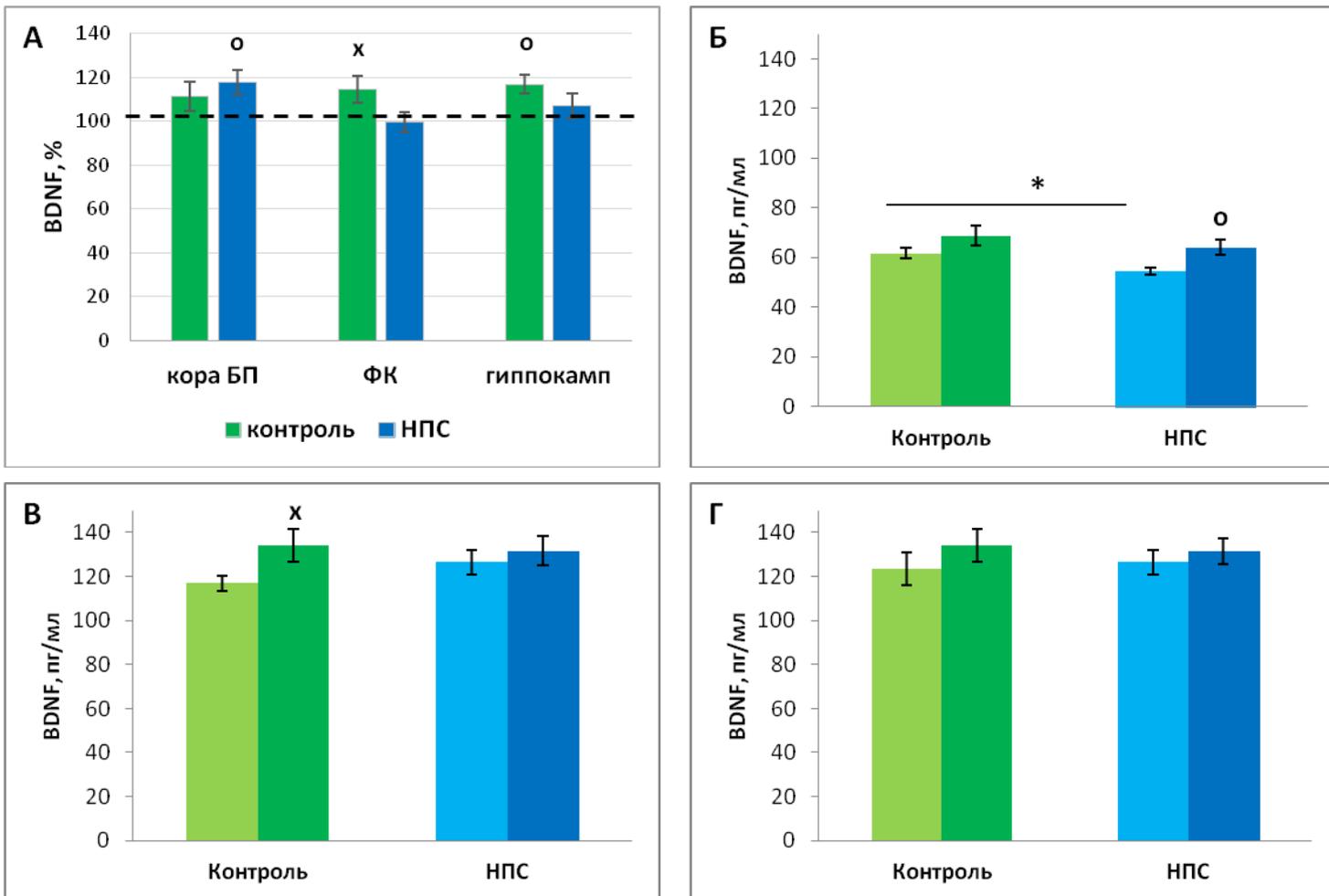


Рисунок 18. Содержание BDNF в структурах мозга взрослых крыс после НПС. А – во всех исследованных структурах мозга в процентном отношении к среднему уровню кортикостерона в соответствующих группах без поведенческого стресса. Пунктирной линией обозначен уровень показателя в подгруппах без субхронического стресса. Б – в коре БП; В – во фронтальной коре (ФК); Г – в гиппокампе. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс», «НПС+стресс»). о, х - различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без стрессогенных тестов и подгруппой после них, о - $p < 0,03$, х - $p = 0,07$ по U-критерию Манна-Уитни. N=42 («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

После субхронического стресса обнаружили пониженный уровень NGF в гиппокампе крыс после НПС (Рисунок 19) относительно животных той же группы, не участвовавших в тестировании поведения. В контрольной группе не выявили таких различий ни в одной из исследованных структур мозга.

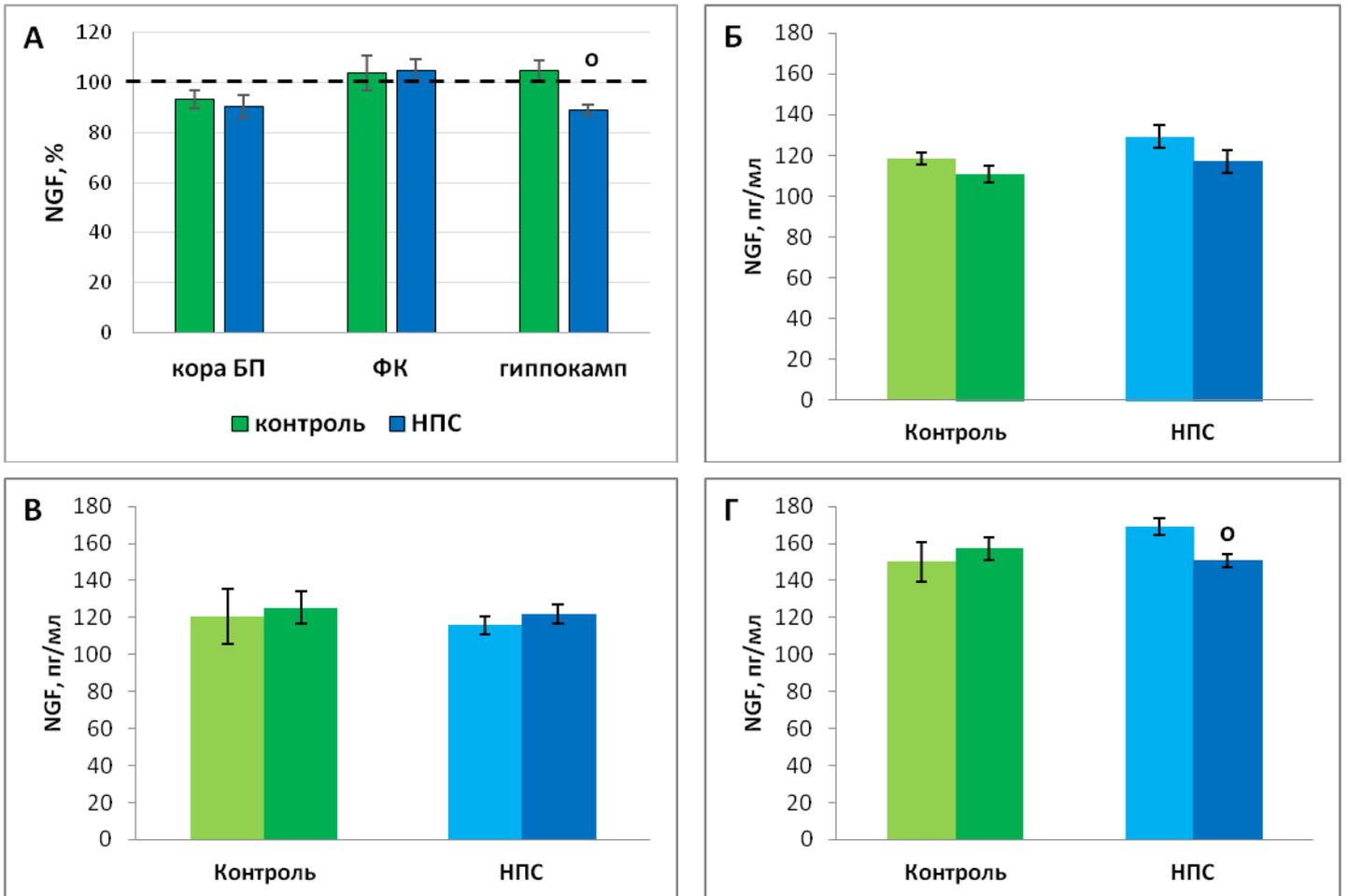


Рисунок 19. Содержание NGF в структурах мозга взрослых крыс после НПС. **А** – во всех исследованных структурах мозга в процентном отношении к среднему уровню кортикостерона в соответствующих группах без поведенческого стресса. Пунктирной линией обозначен уровень показателя в подгруппах без субхронического стресса. **Б** – в коре БП; **В** – во фронтальной коре (ФК); **Г** – в гиппокампе. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения («контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование («контроль+стресс», «НПС+стресс»). **o** - различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без стрессогенных тестов и подгруппой после них, $p=0,001$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

Пониженный уровень BDNF в крови выявляют у пациентов с клинической депрессией (Shimizu *et al.*, 2003), а также в многочисленных моделях депрессии, включая материнскую депривацию в неонатальный период (Cirulli *et al.*, 2009). Мы обнаружили снижение концентрации BDNF в сыворотке крови и коре БП взрослых крыс после НПС. С помощью экспериментальных моделей показано, что уровень BDNF в крови обладает высоким значением корреляции с уровнем BDNF в мозге (Klein *et al.*, 2011). У взрослых крыс, подвергавшихся материнской депривации в неонатальный период, тревожное и депрессивно-подобное

поведение сопровождается, как правило, снижением содержания BDNF в разных структурах мозга: в коре БП, фронтальной коре, гиппокампе, стриатуме и амигдале (Roceri *et al.*, 2004; Lippmann *et al.*, 2007; Réus *et al.*, 2011; Uysal *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2012; Pinheiro *et al.*, 2014). Есть данные, что материнская депривация в неонатальный период вызывает снижение NGF в гиппокампе и амигдале взрослых крыс (Réus *et al.*, 2011). Однако, в нашей работе уровень NGF в исследованных структурах мозга у крыс после НПС не отличался от животных контрольной группы. Тем не менее, стрессорная реакция по содержанию NGF в гиппокампе у крыс после НПС отличалась от реакции контрольной группы. В контрольной группе подгруппа крыс после субхронического стрессорного воздействия не отличалась от подгруппы крыс, не участвовавших в тестировании поведения, по уровню содержания NGF ни в одной из исследованных структур. У группе НПС содержание NGF в гиппокампе было достоверно снижено в подгруппе животных после тестирования относительно подгруппы животных, не участвовавших в тестировании.

Система цитокинов. В рамках данной работы мы исследовали методом мультиплекс-анализа содержание основных цитокинов, циркулирующих в сыворотке крови и регионах мозга: ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, ГМ-КСФ, ИФ γ . В исходном состоянии (т.е. в подгруппах животных, не участвовавших в тестировании поведения) содержание в сыворотке крови этих цитокинов не различалось между группами контрольных и экспериментальных животных. После субхронического стресса содержание всех исследованных цитокинов в крови животных обеих подгрупп было увеличено в сравнении с подгруппами, не участвовавшими в тестировании поведения, в равной степени (Рисунки 20-21).

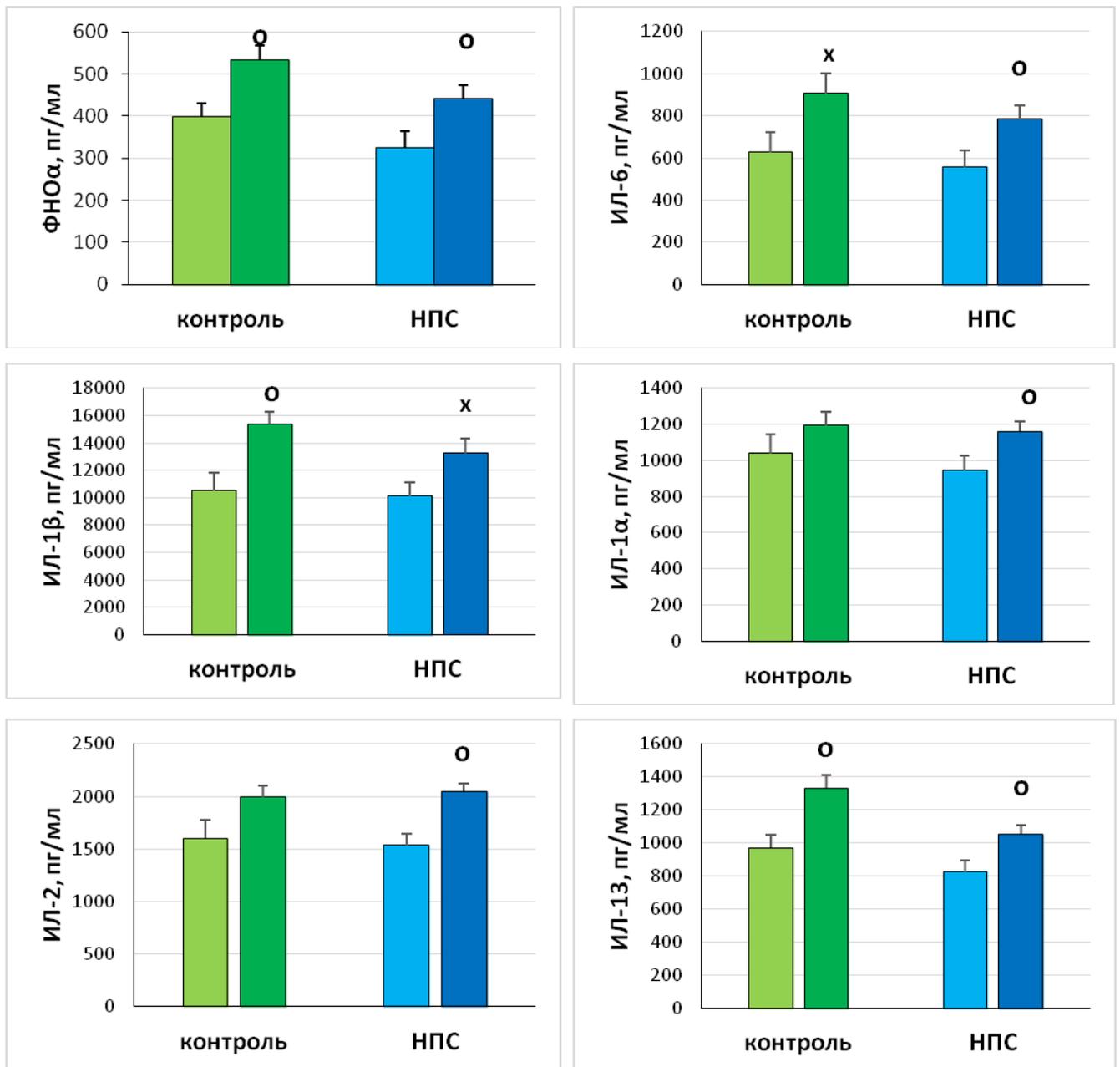


Рисунок 20. Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у крыс в исходном состоянии и после субхронического стресса. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения («контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование («контроль+стресс», «НПС+стресс»). **o**, **x** - различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без тестирования поведения и подгруппой после тестирования. **o** $p < 0,05$, **x** $p < 0,1$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

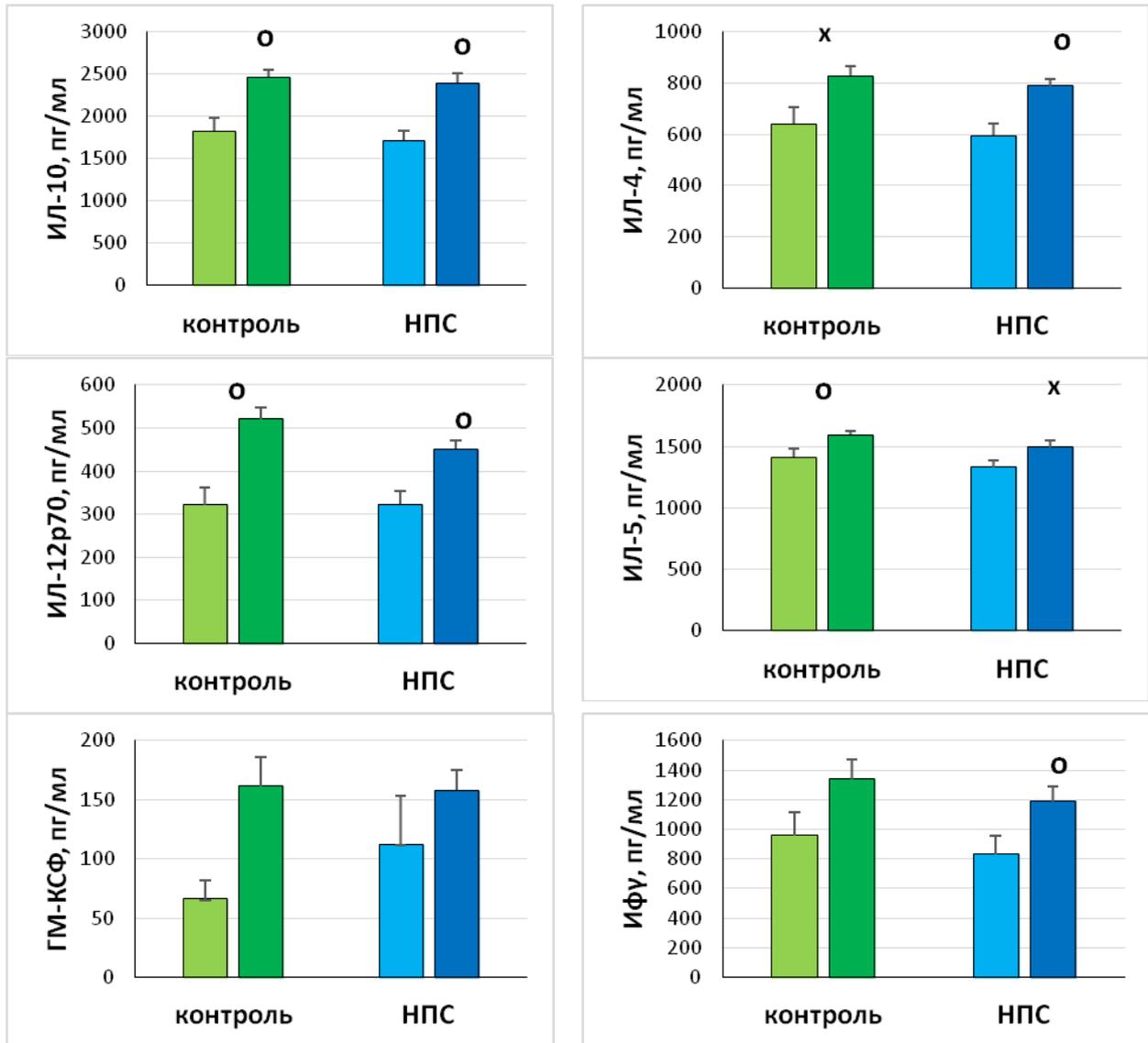


Рисунок 21. Содержание противовоспалительных и иммуномодуляторных цитокинов в сыворотке крови у крыс в исходном состоянии и после субхронического стресса. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения («контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование («контроль+стресс», «НПС+стресс»). **o**, **x** - различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без стрессогенных тестов и подгруппой после них. **o** $p < 0,05$, **x** $p < 0,1$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

Активность системы провоспалительных цитокинов в структурах мозга определяли по содержанию белка и уровню экспрессии мРНК ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α . Как видно на Рисунке 22, на содержание и экспрессию цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α в структурах мозга, по-видимому, практически не повлиял ни НПС, ни субхронический стресс, вызванный тестированием поведения. Тем не менее, у животных после НПС выявили повышенный уровень экспрессии мРНК ИЛ-6 в фронтальной коре мозга в подгруппе животных после проведения стрессогенных тестов по сравнению с животными, не участвовавшими в тестировании (Рисунок 22).

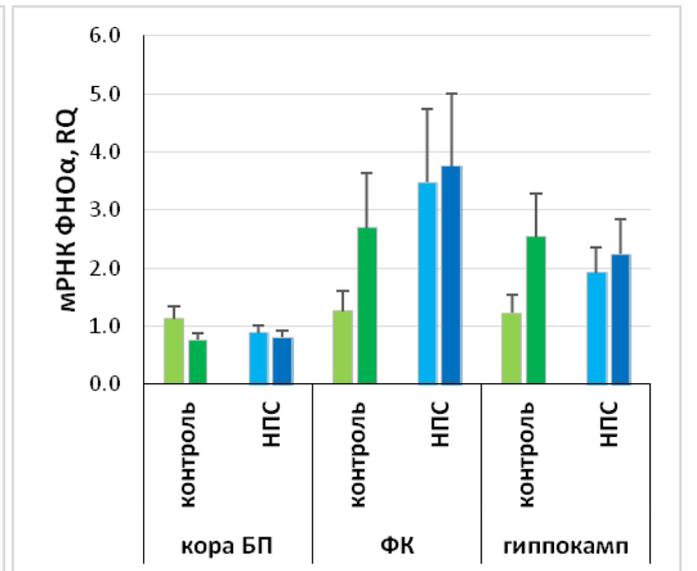
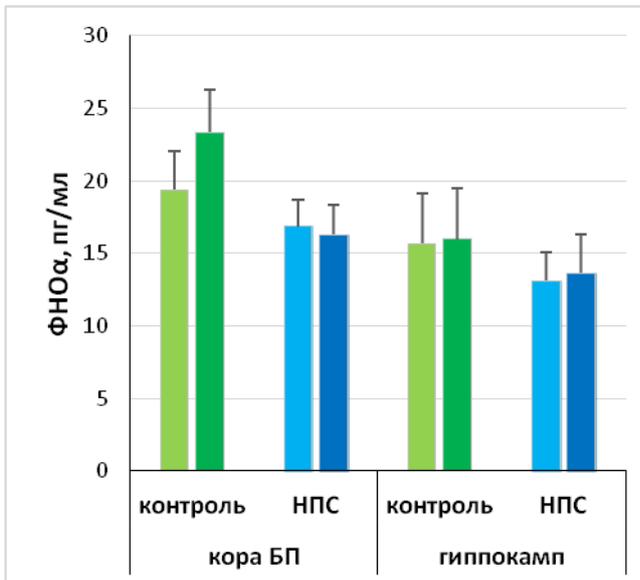
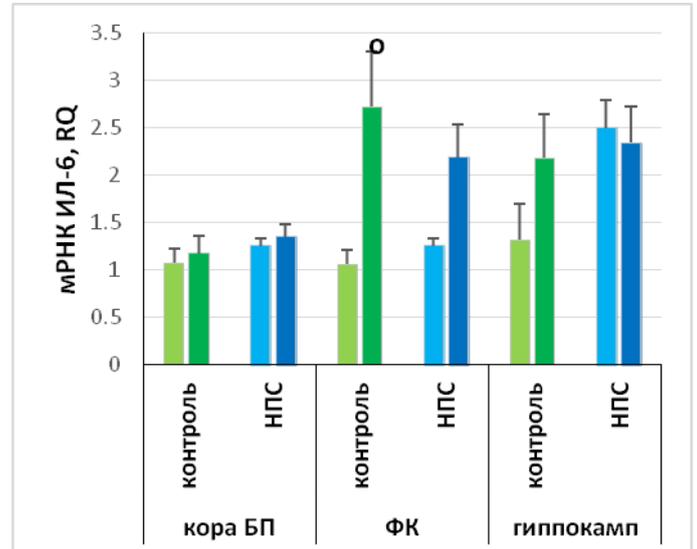
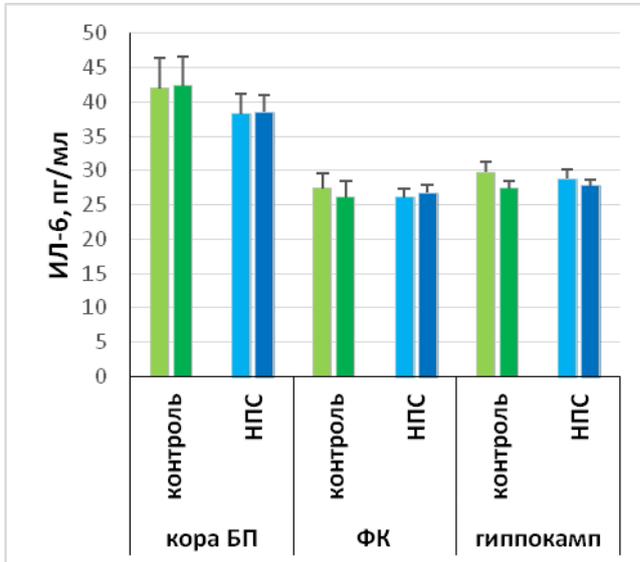
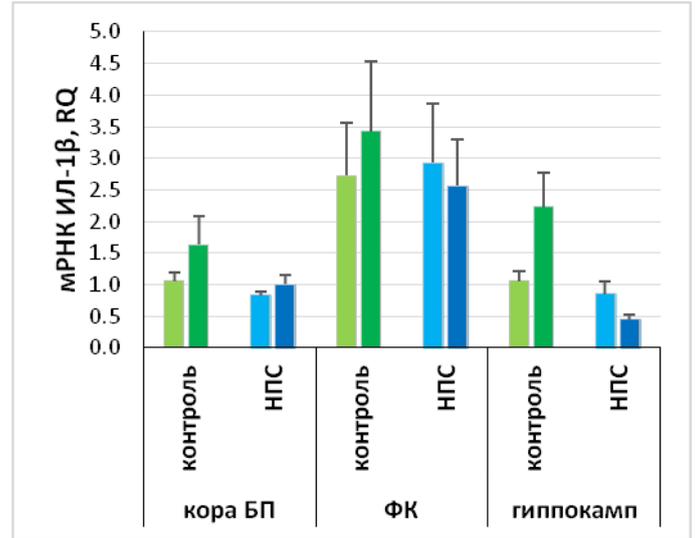
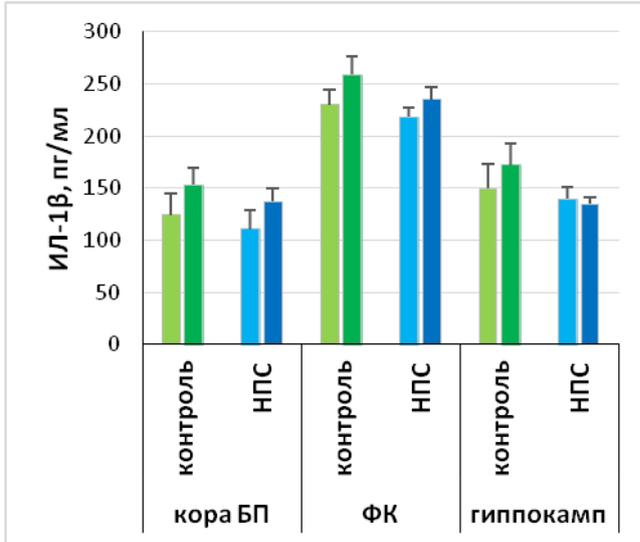


Рисунок 22. Уровень провоспалительных цитокинов по содержанию белка ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α и экспрессии мРНК в структурах мозга крыс в исходном состоянии и после субхронического стресса. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения («контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование («контроль+стресс», «НПС+стресс»). \circ различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без стрессогенных тестов и подгруппой после них, $p < 0,05$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12).

У ювенильных животных не выявили различий по уровню ФНО α в плазме крови между экспериментальной и контрольной группами в исходном состоянии. После тестирования поведения содержание этого фактора увеличилось в обеих группах в равной степени (на 41% в контрольной группе и на 47% в группе НПС) (Рисунок 23).

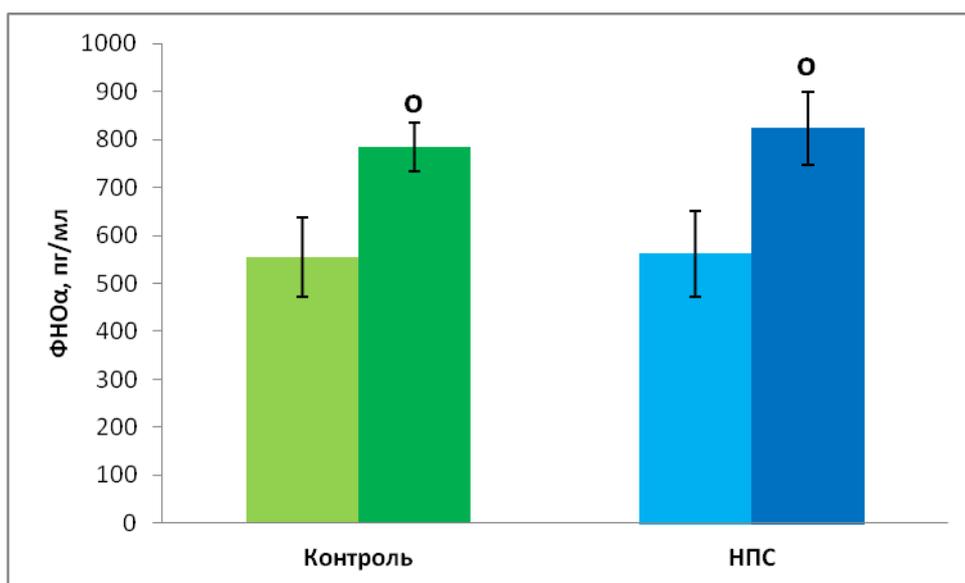


Рисунок 23. Содержание ФНО α в плазме крови крыс после НПС в возрасте 1 мес. Светлым цветом обозначены показатели крови животных до тестирования поведения, более темным цветом – после тестирования. \circ - внутригрупповые различия между уровнем показателя до стрессогенных тестов и после них. \circ $p < 0,05$, по t-критерию Вилкоксона для зависимых переменных. $N=19$ («контроль» - 10, «НПС» - 9).

По содержанию цитокинов в сыворотке крови взрослых крыс не выявили различий между крысами после НПС и контрольными животными. Уровень провоспалительных и иммуномодуляторных цитокинов в сыворотке крови крыс после НПС и крыс контрольной группы не различался в исходном состоянии, что указывает на хорошее физиологическое состояние крыс с тревожным и депрессивно-подобным поведением. Есть работы, в которых у

крыс после НПС, демонстрирующих тревожное поведение, также не выявляют изменения базальных уровней ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 в плазме крови (Staci D. Bilbo *et al.*, 2005; Walker, Nodyl, *et al.*, 2006). Активация иммунной системы является ожидаемым результатом субхронического стресса. Повышение секреции цитокинов в условиях стресса произошла в равной степени в обеих группах животных. ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α могут проникать в мозг из периферических тканей, или синтезироваться микроглиальными клетками мозга в ответ на стрессорное воздействие, периферические инфекции или травмы (Hopkins and Rothwell, 1995; Rothwell and Hopkins, 1995; Murray and Lynch, 1998; McAfoose and Baune, 2009). Рецепторы цитокинов обнаружены во всех структурах мозга, причем большую плотность обнаруживают в том числе в лимбической системе (Viviani, Gardoni and Marinovich, 2007). Мы выявили нарушение реакции на субхронический стресс по уровню экспрессии мРНК цитокина ИЛ-6. Повышенный уровень экспрессии мРНК этого цитокина обнаружили во фронтальной коре у животных контрольной группы после субхронического стресса по сравнению с подгруппой животных, не участвовавших в тестировании поведения. Тем не менее, не смотря на повышенный уровень экспрессии мРНК, мы не получили таких же результатов по ИЛ-6 на уровне белка. У крыс после НПС этот показатель не различается между подгруппами крыс после субхронического стресса и без него. Исследования последствий НПС на систему провоспалительных цитокинов в мозге противоречивы. Bilbo *et al* (2005) выявили снижение содержания ИЛ-1 β в гипоталамусе, гипофизе и спинном мозге у взрослых крыс после НПС, в то время как в гиппокампе, префронтальной коре и париетальной коре уровень ИЛ-1 β не различался (Staci D. Bilbo *et al.*, 2005). В 2008 г. тот же научный коллектив опубликовал результаты об отсутствии различий в уровне экспрессии мРНК ИЛ-1 β в гиппокампе у крыс после НПС и у контрольных животных (Bilbo *et al.*, 2008). Kohman *et al.* (2008) показали, что уровень экспрессии мРНК ИЛ-1 β в гиппокампе и коре БП не изменился у взрослых крыс после НПС (Kohman *et al.*, 2008). Тем не менее, Walker *et al* (2010) выявили повышенный ИЛ-1 β и ФНО α в гиппокампе крыс после НПС (A. K. Walker, Nakamura and Hodgson, 2010). Pinheiro *et al* (2014) показали повышение содержания ФНО α в гиппокампе и коре БП крыс с тревожным и депрессивно-подобным поведением (Pinheiro *et al.*, 2014). Некоторые исследователи выявляют нарушения функционирования системы провоспалительных цитокинов в ответ на стрессорное воздействие у взрослых крыс после НПС по уровню ИЛ-1 β и ФНО α в гиппокампе крыс с тревожным и депрессивно-подобным поведением (Bilbo *et al.*, 2008; A. K. Walker, Nakamura and Hodgson, 2010; A.K. Walker, Nakamura and Hodgson, 2010). Взрослые крысы после НПС помимо нарушений поведения и измененной реакции на стресс со стороны эндокринной системы обладают большей чувствительностью к провоспалительной стимуляции во взрослом возрасте.

У взрослых животных после НПС внутрибрюшинное введение ЛПС вызывает измененную реакцию со стороны системы провоспалительных цитокинов в мозге на уровне концентрации и экспрессии мРНК (S. D. Bilbo *et al.*, 2005; Boissé, Mouihate and Pittman, 2006; Kohman *et al.*, 2008). Однако, некоторые исследователи не обнаруживают нарушений реакции ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО α в гиппокампе в ответ на провоспалительную индукцию у взрослых крыс после НПС (Walker, Hodyl, *et al.*, 2006), или обнаруживают только на системном уровне (Kentner *et al.*, 2010). Таким образом, неонатальная провоспалительная стимуляция вызывает нарушения работы системы провоспалительных цитокинов во взрослом возрасте. Выраженность этих нарушений, согласно данным литературы, различна, и для однозначной трактовки требуется накопление большего числа экспериментальных данных.

5.4 Функционально-биохимические нарушения у людей с ТДС в исходном состоянии и в условиях стресса

В рамках этого исследования мы располагали данными клинического и биохимического анализов крови, а также проводили ИФА уровня кортизола, АКТГ, провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α и нейротрофина BDNF в сыворотке крови. Состояние всех этих показателей при клинической депрессии подробно исследовано и опубликовано в многочисленных работах, наши данные полностью согласуются с данными литературы. В рамках данного трансляционного исследования мы хотели максимально приблизить экспериментальные и клинические условия для сравнения полученных результатов. Очевидно, что воссоздать эффект субхронического стресса, которому подвергались крысы, у пациентов с тревожно-депрессивной симптоматикой не представляется возможным. В то же время наиболее релевантным типом стрессорного воздействия у людей в настоящий момент является психо-эмоциональное стрессорное воздействие. Хотя моделирование психо-эмоционального стрессорного воздействия на грызунах возможно (Гусакова, Городецкая, 2019), оно не является распространенным. Поэтому для клинической части работы мы выбрали умеренное психо-эмоциональное стрессорное воздействие, понимая, что полноценное сравнение реакции на стрессор различной длительности и модальности невозможно. Стрессорная реакция у пациентов с клинической депрессией изучена мало, и данные в литературе противоречивые. Как правило, для изучения реакции на психо-эмоциональный стимул у людей в лабораторных условиях используют трирский социальный стресс-тест, разработанный в 1993 году в Трирском университете в Германии (Kirschbaum, Pirke and Hellhammer, 1993). Процедура Трирского

стресс-теста заключается в последовательном предъявлении испытуемым следующих заданий: подготовка к публичному выступлению, публичное выступление перед жюри, решение арифметической задачи). Этот стресс-тест показал свою валидность во множестве экспериментов, тем не менее, он 1) достаточно сложен и долговременен в проведении - необходимо несколько экспериментаторов; 2) обладает значительной стрессорной нагрузкой, что может оказывать негативное воздействие на состояние психически нездоровых испытуемых. Мы давали испытуемым умеренную эмоционально-когнитивную нагрузку, заключающуюся в решении очень легкой когнитивной задачи в условиях сильно ограниченного времени и постоянной смены стимульного материала. То есть, в нашем исследовании сразу после забора венозной крови каждого испытуемого подвергали умеренному психо-эмоциональному стрессу в течение 5 минут, после чего следовал период отдыха и восстановления. Через 60 минут после окончания психо-эмоционального стрессорного воздействия у испытуемых повторно забирали кровь из вены для оценки изменения показателей после стрессорного воздействия. Данную процедуру осуществляли в утреннее время – в 8-9 утра.

Показатели клинического анализа крови. Для всех испытуемых проводили клинический анализ крови, включающий оценку следующих показателей: содержание тромбоцитов, эритроцитов, гемоглобина, общее содержание лейкоцитов, а также содержание нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов в процентах от общего количества лейкоцитов. По всем исследованным показателям не выявили различий между контрольной группой и группой испытуемых с тревожно-депрессивной симптоматикой. Через час после когнитивной нагрузки в сыворотке крови испытуемых обеих групп выявили снижение содержания лимфоцитов и увеличение содержания нейтрофилов (Рисунок 24).

Основные биохимические показатели крови. В сыворотке крови всех испытуемых проводили расширенный биохимический анализ крови. Не выявили различий между группами испытуемых по уровню глюкозы, билирубина, триглицеридов, холестерина и активности ферментов. Содержание глюкозы после умеренного психо-эмоционального стресса возросло в группе испытуемых с ТДС (Рисунок 24).

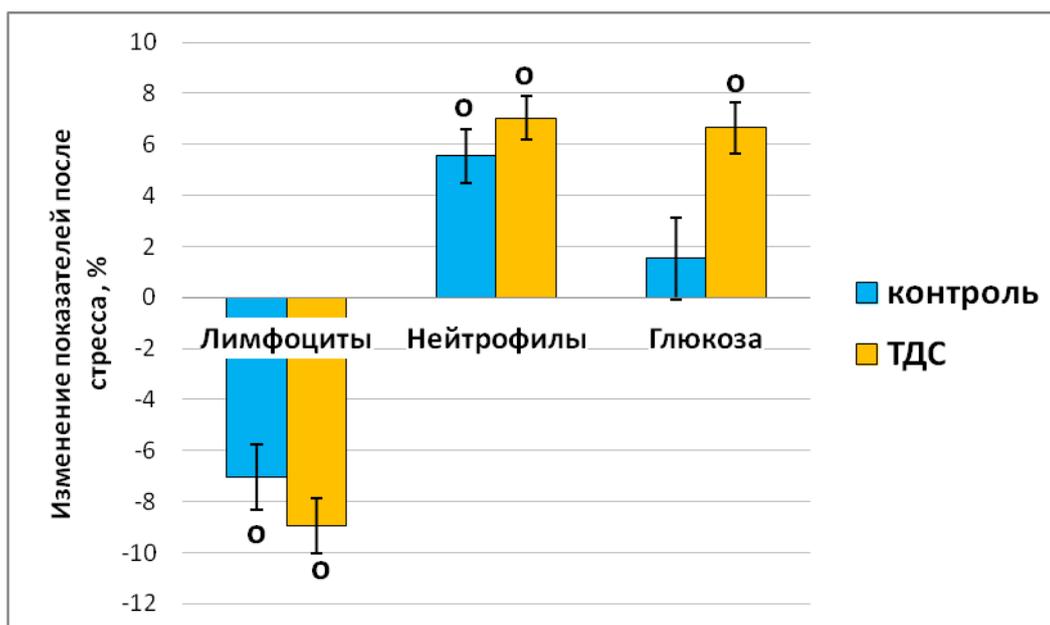


Рисунок 24. Изменение показателей в сыворотке крови через час после умеренного психо-эмоционального стресса. Нулевое значение на оси ординат соответствует дострессорному уровню каждого показателя. Изменение показателя посчитано отдельно для каждого испытуемого, на рисунке представлены средние значения изменений по группам. \circ – отличие постстрессорного уровня показателя от уровня до стресса, $p < 0,05$ по *t*-тесту Стьюдента для зависимых переменных (распределение значений нормальное). $N=118$ (контроль – 44, ТДС – 74).

Глюкоза. Эффективность стрессорного воздействия оценивали по увеличению содержания глюкозы в крови через 1 час после теста. Исходя из этого показателя, мы выявили большую чувствительность к психо-эмоциональному стрессорному воздействию людей с ТДС в сравнении со здоровыми испытуемыми. У пациентов с ТДС через час после теста в крови было достоверно выше содержание глюкозы по сравнению с уровнем до теста, тогда как в контрольной группе изменения уровня данного показателя не были статистически значимыми (Рисунок 25). Большая чувствительность к стрессорному воздействию у пациентов с ТДС может быть вызвана гиперактивацией симпато-адреналовой системы или ГГНС (Рисунок 26).

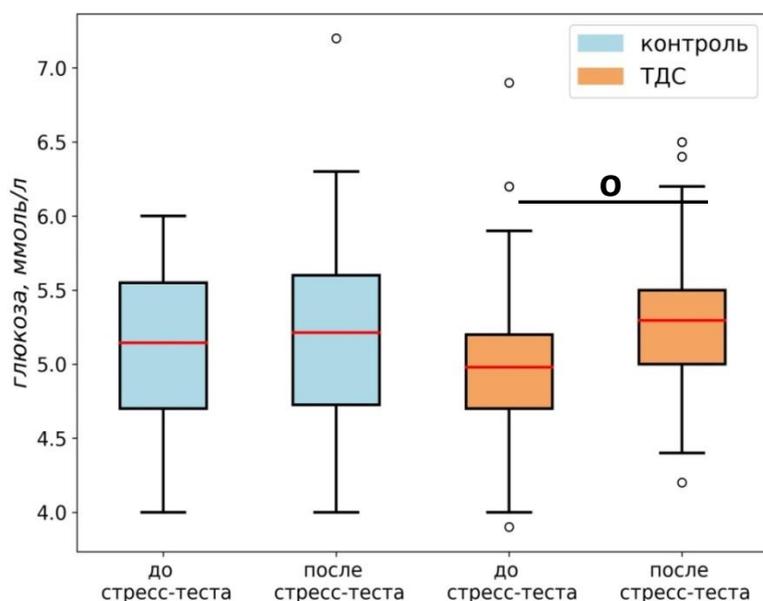


Рисунок 25. Содержание глюкозы в сыворотке крови в исходном состоянии и через час после умеренного психо-эмоционального стрессорного воздействия. Средние значения обозначены красными линиями поперек каждого бокса. *o* – отличие уровня показателя через час после теста от уровня до теста, – $p < 0,0001$ по *t*-тесту Стьюдента для зависимых переменных. $N=117$ (контроль – 44, ТДС – 73).

В нашей работе индуцированное стрессом повышение содержания глюкозы произошло у 76% пациентов с ТДС и только у 48% здоровых испытуемых, с достоверной разницей между группами ($p=0,002$ по критерию хи-квадрат Пирсона).

Гормоны ГГНС: кортизол и АКТГ. Содержание гормонов кортизола и АКТГ на исходном уровне у пациентов с ТДС достоверно выше, чем у здоровых испытуемых (Рисунок 26).

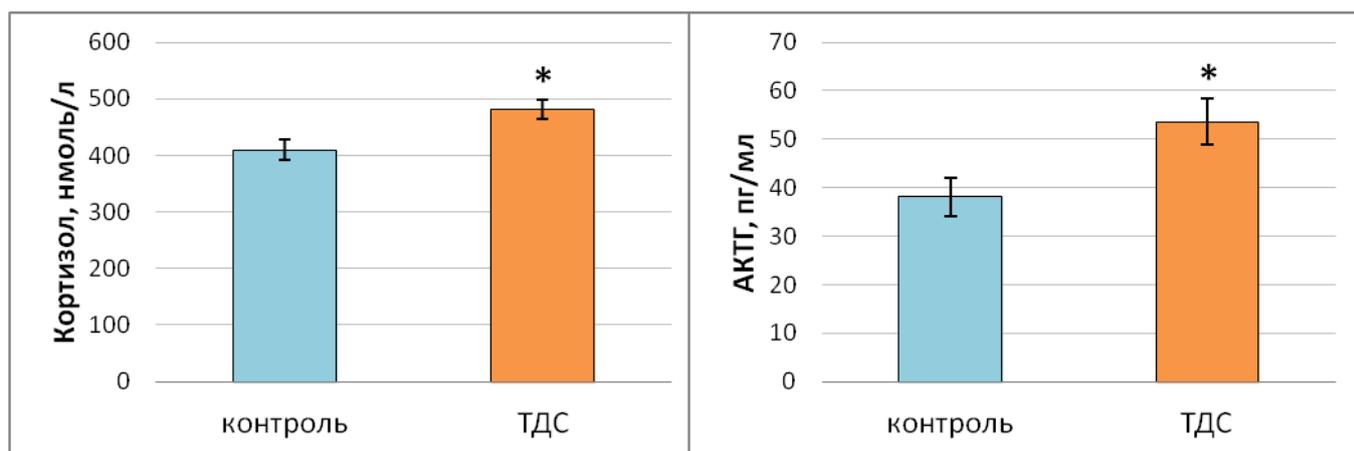


Рисунок 26. Содержание кортизола и АКТГ в сыворотке крови. * - отличие группы пациентов с ТДС от группы контроля, $p < 0,05$ по *t*-тесту Стьюдента для независимых переменных. $N=118$ для кортизола, 67 - для АКТГ.

Нейротрофический фактор BDNF. Содержание нейротрофического фактора BDNF в сыворотке крови не различалось в группах пациентов с ТДС и здоровых испытуемых в исходном состоянии (Рисунок 27).

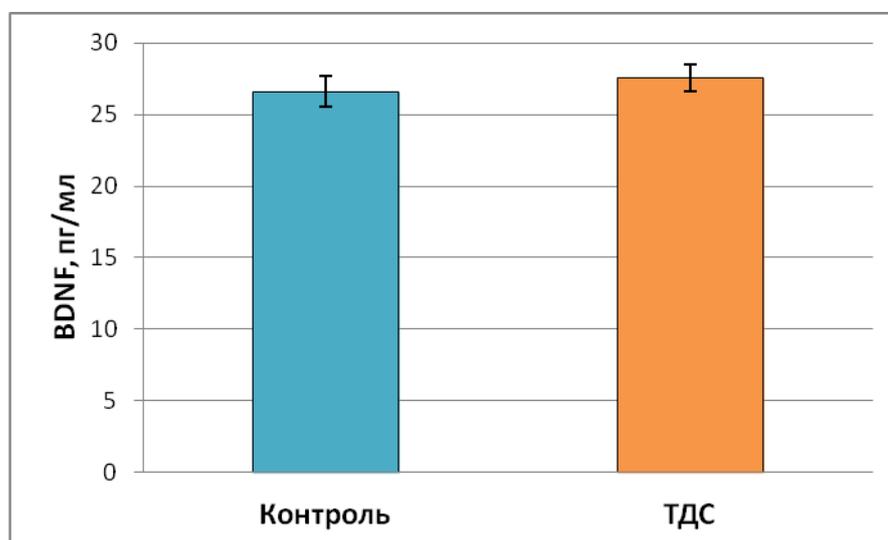


Рисунок 27. Содержание BDNF в исходном состоянии в сыворотке крови здоровых испытуемых и пациентов с ТДС. $N=113$.

Система провоспалительных цитокинов. Выявили повышенное содержание провоспалительных цитокинов ФНО α и ИЛ-6 в сыворотке крови испытуемых с ТДС в сравнении с группой контроля (Рисунок 28).

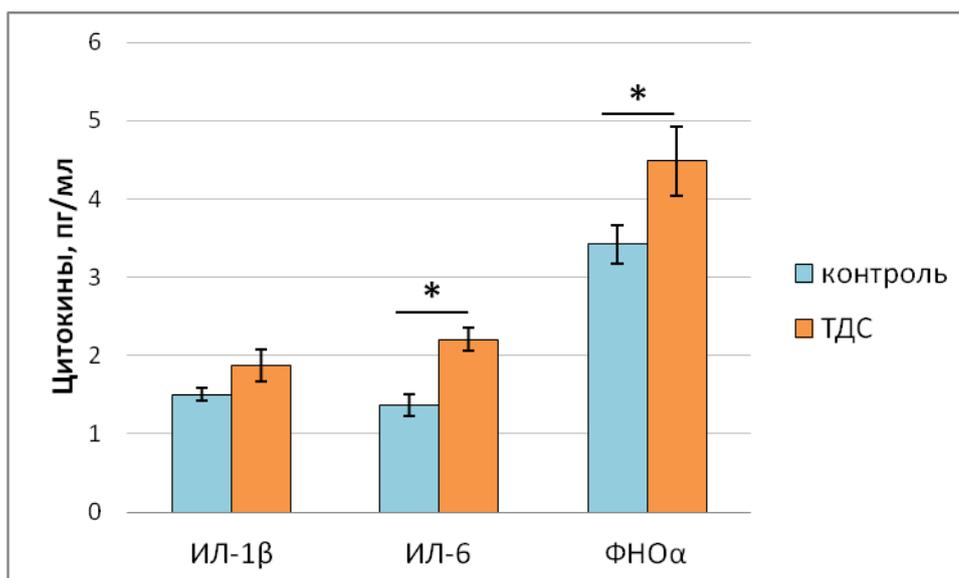


Рисунок 28. Содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНОα в сыворотке крови здоровых испытуемых и пациентов с ТДС в исходном состоянии. * - отличие группы пациентов с ТДС от группы контроля. $p < 0,05$ по t -тесту для независимых переменных. $N = 96$ для ИЛ-1β, 114 – для ИЛ-6, 68 - для ФНОα.

Через 1 час после умеренного психо-эмоционального стрессорного воздействия у испытуемых обеих групп наблюдали тенденцию к снижению уровня BDNF в сыворотке крови (Рисунок 29). Также через час после теста содержание провоспалительного цитокина ИЛ-6 достоверно возросло в сыворотке крови пациентов с ТДС на 7% (Рисунок 29). У здоровых испытуемых содержание ИЛ-6 после психо-эмоционального стрессорного воздействия также увеличилось (на 10%), тем не менее, больший разброс данных не позволяет подтвердить эти изменения статистически. Содержание ИЛ-1β и ФНОα в сыворотке крови через час после умеренного психо-эмоционального стрессорного воздействия не изменилось ни в контрольной группе, ни в группе пациентов с ТДС.

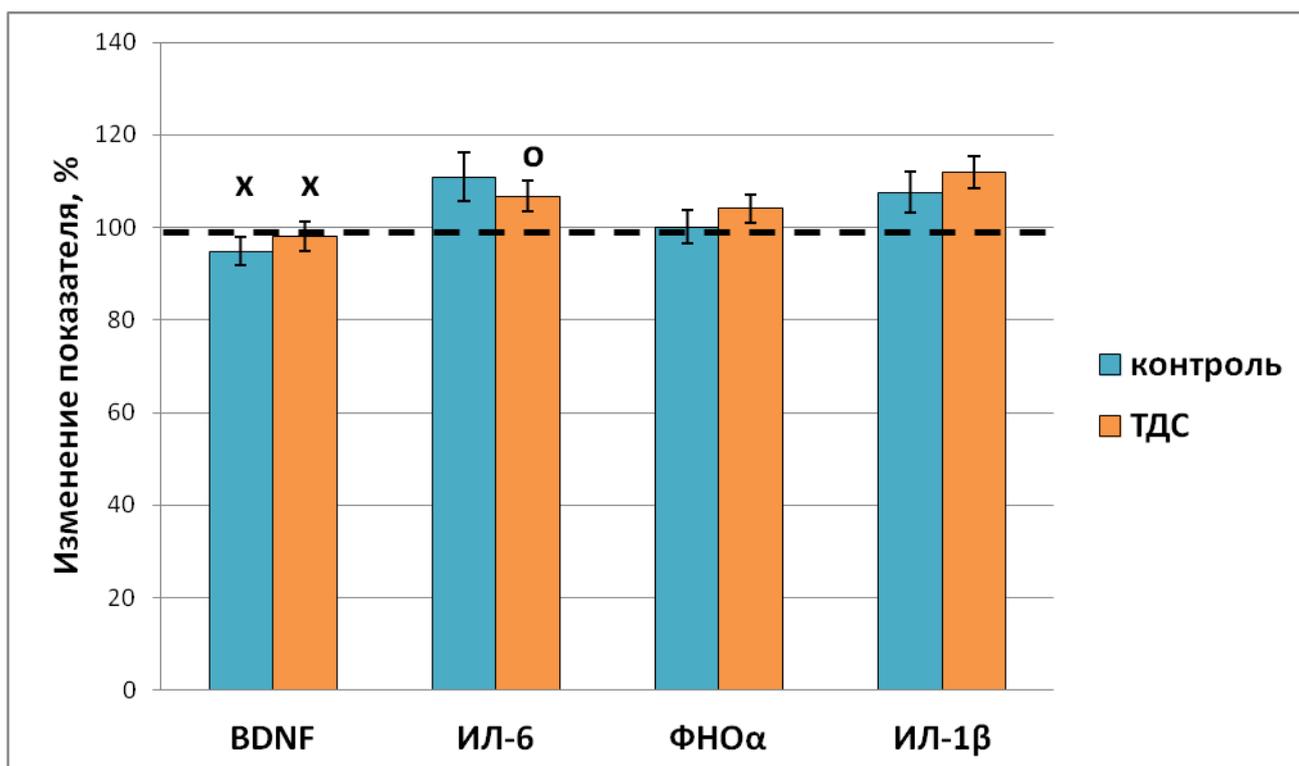


Рисунок 29. Изменение показателей крови через 1 час после умеренного психо-эмоционального стрессорного воздействия. *o*, *x* - отличие постстрессорного от уровня до стресса, *o* – $p=0,03$, *x* – $p<0,1$ по *t*-тесту Стьюдента для зависимых переменных.

Уровни кортизола и АКТГ в сыворотке крови подвержены значительным циркадианным изменениям, например, в периоде 8-12 утра уровень кортизола снижается примерно в 2,5 раза, а АКТГ – в 1,5 раза (Mortola *et al.*, 1987). В связи со спецификой работы в клинических условиях, эксперимент для всех испытуемых проводили утром, что не позволило нам оценить стресс-индуцируемые изменения этих показателей. Мы ожидали получить результаты аналогичные тем, что получили в экспериментальной части работы: повышение кортизола в группе контроля и отсутствие реакции в группе ТДС. И действительно, у отдельных людей с, по-видимому, измененным циркадианным циклом, мы получили такую реакцию (Рисунок 30 для двух «образцовых испытуемых»). Тем не менее, в общей массе испытуемых циркадианное снижение перекрывает эффекты стресса. Кортизол имеет широкий спектр нормальных значений, все данные по нашим испытуемым (как до, так и после стресс-теста), не выходили за границы нормы.

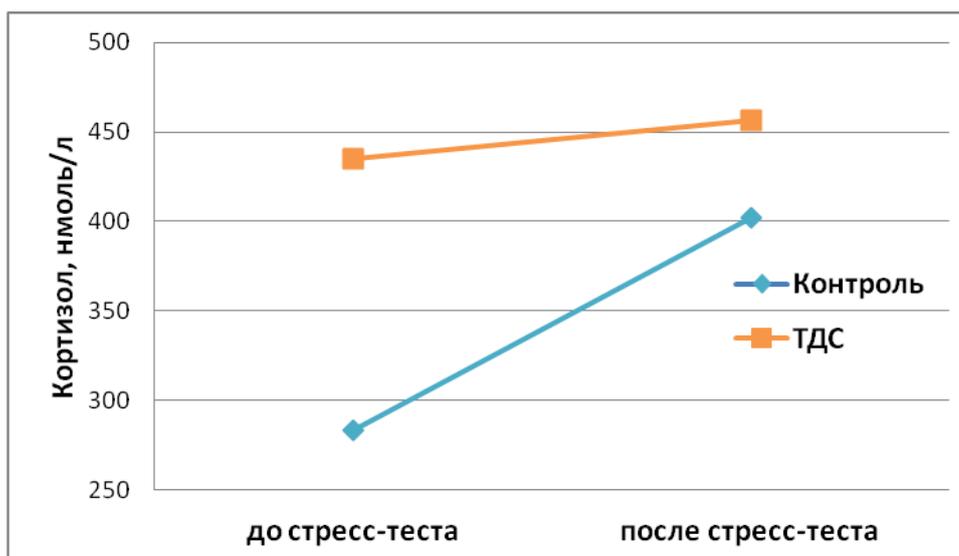


Рисунок 30. Реакция «образцовых испытуемых» на психо-эмоциональный стресс по уровню кортизола.

Анализ показателей с точки зрения предикторной способности. Для оценки каждого из исследованных показателей как потенциального маркера тревожно-депрессивной симптоматики, построили множественную логистическую регрессионную модель. Использование показателей содержание кортизола, АКТГ, ФНО α , ИЛ-6, изменение глюкозы, изменение ИЛ-6 (Таблица 3) позволило достичь процента конкордации модели с экспериментальными данными 76%.

Таблица 3 - Параметры множественной логистической регрессионной модели, построенной для категориального признака наличие тревожно-депрессивной симптоматики у испытуемого по следующим показателям: кортизол, АКТГ, ФНО α , ИЛ-6 в сыворотке крови в исходном состоянии; а также изменение содержания ИЛ-6 и глюкозы через час после умеренного психо-эмоционального стресса

показатель	регрессионный коэффициент	р-значение	95% доверительный интервал
кортизол	0.013	0.002	0.005-0.022
АКТГ	0.022	0.155	-0.008-0.052
ФНО α	0.753	0.045	0.015-1.491
ИЛ-6	0.56	0.098	-0.104-1.225
изменение ИЛ-6	-0.0127	0.362	-0.04-0.015
изменение глюкозы	0.181	0.002	0.066-0.297

В Таблице 3 указаны регрессионные коэффициенты для исследованных показателей. Видно, что наибольшей предикторной способностью обладают показатели ИЛ-6, ФНО α и стресс-индуцированное изменение глюкозы. Построив модель, используя только эти показатели, мы получили процент конкордации, равный 72%. То есть повышенное исходное содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНО α и реакция на умеренное психо-эмоциональное стрессорное воздействие в виде увеличения уровня глюкозы в крови имеют высокую согласованность, что хорошо характеризуют нашу выборку испытуемых с тревожно-депрессивной симптоматикой.

6 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дисфункция ГНС у крыс после НПС. Введение ЛПС в неонатальном периоде влияет на функционирование ГНС во взрослом возрасте. С одной стороны, провоспалительные цитокины, уровень которых повышается после инъекции ЛПС, могут активировать ГНС и повышать секрецию глюкокортикоидов. С другой стороны, глюкокортикоиды обладают противовоспалительным действием и их повышенная секреция необходима в фазе острого ответа на воспаление для выживания организма. Провоспалительный стресс в неонатальном периоде, когда происходит формирование различных систем организма, в том числе и стресс-реализующих, может вызвать аллостаз, то есть изменения гомеостаза под действием аллостатической нагрузки, и формирование и/или функционирование ГНС будет нарушено таким образом, что вернуться к нормальному уровню уже невозможно. В результате ГНС во взрослом возрасте, по-видимому, стабильно находится в состоянии повышенной активности, о чем свидетельствует увеличенный уровень кортикостерона в крови взрослых крыс. Если подвергнуть этих животных субхроническому стрессу, активация ГНС, наблюдаемая у контрольных животных, у крыс после НПС не происходит. Возможно, у взрослых крыс после НПС в исходном состоянии (без дополнительного стрессорного воздействия) содержание кортикостерона в крови максимальное, поэтому стрессорного увеличения этого показателя не происходит. Показано, что в онтогенезе грызунов есть период пониженной чувствительности к стрессорному воздействию (у крыс он длится с 2 по 14 постнатальные дни). В этот период крысята демонстрируют сниженный поведенческий и эндокринный ответ на стресс (Sapolsky and Meaney, 1986; Rosenfeld *et al.*, 1991). Полагают, что этот период критически важен для нормального развития нервной системы. Если в этот период в результате сильного провоспалительного воздействия происходит стрессорный ответ, активируется ГНС, повышается продукция кортикостероидов и усиливается кортикостероидный сигналинг, в частности, через ГР, то развитие мозга нарушается. Очевидно, что наиболее сильное влияние кортикостерон оказывает на структуры, нейроны которых экспрессируют высокий уровень ГР. Согласно нашим результатам, НПС вызывает повышение уровня кортикостерона в коре БП взрослых крыс, что совпадает с возросшим уровнем стресс-гормона в крови этих животных. Мы ожидали получить такие данные для фронтальной коры и гиппокампа, так как в данных

структурах экспрессируется повышенный уровень ГР (Watson and Mackin, 2006; Dong *et al.*, 2009), однако, уровень кортикостерона не был увеличен в этих регионах мозга крыс после НПС. Более того, кора БП оказалась чувствительнее остальных исследованных регионов мозга к стрессорному воздействию у контрольных животных. Так, содержание кортикостерона возросло в коре БП контрольных крыс после субхронического стресса. У крыс после НПС уровень кортикостерона был повышен в исходном состоянии в коре БП и после субхронического стресса в равной мере. Соответственно, мы предположили, что стрессорное воздействие не индуцировало увеличение содержания этого показателя у крыс после НПС. Таким образом, мы показали, что нарушение функционирования ГГНС, формирующееся в результате НПС, вызывает повышение содержания кортикостерона не только в сыворотке крови, но и в коре БП в исходном состоянии и проявляется в неспособности к дальнейшему повышению уровня стресс-гормона в условиях субхронического стресса, которое демонстрировали взрослые крысы контрольной группы.

Функционирование системы ГГНС в мозге при данном варианте формирования экспериментальной депрессии исследовано в незначительном числе работ. У крыс после НПС обнаружили повышенную плотность ГР в гипоталамусе и отсутствие различий по этому показателю в гиппокампе (Nilsson *et al.*, 2002). Тем не менее, мы можем провести аналогию с данными, полученными при моделировании депрессии посредством неонатальной материнской депривации. В неонатальный период (2-14 постнатальные дни) крысят ежедневно забирают из материнских клеток и помещают на 3 часа в одиночные клетки. Такое воздействие в неонатальном периоде приводит к устойчивому тревожному и депрессивно-подобному поведению у взрослых животных (van Oers *et al.*, 1998; Sánchez, Ladd and Plotsky, 2001; Vetulani, 2013). Во взрослом возрасте у таких животных выявляют нарушения ключевых компонентов ГГНС в мозге. Так, в коре БП, в префронтальной коре и PVN гипоталамуса зарегистрировано повышение экспрессии мРНК КРФ у взрослых крыс (Ladd *et al.*, 2005), а также снижение уровня экспрессии мРНК МР в поле СА1 гиппокампа (Vázquez *et al.*, 1996), на фоне тревожного и депрессивно-подобного поведения.

Изменение в системе нейротрофинов у крыс после НПС. BDNF активно участвует в формировании отделов ЦНС, в дифференцировке и выживании нейронов, процессах нейропластичности (Lewin, 1996; McAllister, Katz and Lo, 1997). Стресс, провоспалительные стимулы, повышенное содержание глюкокортикоидов вызывают снижение уровня BDNF и NGF в крови и ЦНС (Manni *et al.*, 1998; Vaidya, Terwilliger and Duman, 1999; Kuma *et al.*, 2004; Murakami *et al.*, 2005; Nowacka *et al.*, 2015). В частности, у крысят материнская депривация и приучение к рукам в неонатальный период сопровождается снижением содержания BDNF (Kuma

et al., 2004; Roceri *et al.*, 2004) и NGF (Manni *et al.*, 1998) в коре БП и гиппокампе в возрасте 16-20 дней (после завершения эпизодов материнской депривации). Снижение содержания этих нейротрофинов приводит к апоптотической гибели нейронов и нарушению формирования нейрональных связей (Watanabe, Gould and McEwen, 1992). Индуцированное стрессом снижение уровня нейротрофинов BDNF, NGF и NT-3 сопряжено с нарушениями гиппокамп-зависимой памяти у взрослых крыс (Ueyama *et al.*, 1997). Если снижение содержания нейротрофических факторов происходит в критический для развития мозга период (у крыс он длится с 2 по 14 постнатальные дни), оно может вызвать необратимые последствия и в конечном итоге привести к структурно функциональным нарушениям: уменьшению объема гиппокампа и нарушению функционирования лимбической системы.

Как и в случае с кортикостероном, по уровню BDNF кора БП оказалась более реактивной в ответ на субхроническое стрессорное воздействие среди исследованных регионов мозга крыс после НПС. Исходный уровень BDNF у крыс, перенесших НПС, понизился в коре БП, что совпадало со снижением нейротрофина в крови, и не изменился во фронтальной коре и гиппокампе. В дальнейшем после субхронического стресса (при сравнении между подгруппами без стресса и после него) у крыс обеих групп было повышено содержание BDNF в исследованных регионах мозга, однако у крыс контрольной группы этот результат наблюдали в гиппокампе и фронтальной коре, а у животных после НПС - только в коре БП. Таким образом, субхронический стресс не вызвал предполагаемого снижения уровня BDNF в регионах мозга крыс. Напротив, у крыс контрольной группы увеличение содержания BDNF в той или иной степени произошло во всех исследованных структурах, тогда как у крыс после НПС такая реакция наблюдалась только в коре БП, где исходно уровень нейротрофина был понижен. По-видимому, интенсивность и длительность субхронического стресса, вызванного тестированием поведения, обеспечили на данной временной точке преобладание адаптивных реакций на стресс, идущих с активацией системы нейротрофинов (преимущественно BDNF), а не с ее нарушением, однако у крыс после НПС данная система задействована в меньшей степени, чем в контроле. По сравнению с BDNF, NGF оказался менее значимым по реактивности на НПС и на его уровень повлиял только субхронический стресс, индуцировавший снижение содержания этого нейротрофина в гиппокампе крыс после НПС. Полученные нами данные не противоречат опубликованным результатам других исследователей. Так же, как и в нашей работе, НПС не оказал влияния на уровень экспрессии мРНК BDNF в гиппокампе крыс (Bilbo *et al.*, 2008). В этой работе исследовали стрессорный ответ на эмоционально-болевым стимулом по уровню экспрессии гена BDNF в гиппокампе крыс после НПС. Экспрессия мРНК BDNF возросла в гиппокампе крыс обеих групп, но у крыс после НПС увеличение экспрессии была значительно

меньше, чем у крыс контрольной группы (Wilbo *et al.*, 2008). При моделировании тревожного и депрессивно-подобного поведения посредством хронического стресса воздействия, вызванного непредсказуемым стрессорным воздействием (ХНС) у мышей дикого типа ($bdnf^{+/+}$) и мышей с пониженным уровнем экспрессии BDNF ($bdnf^{+/-}$) было показано, что данный нейротрофический фактор не влияет на чувствительность к стрессору. Мыши дикого типа и мыши с нокаутом гена BDNF в гетерозитном состоянии ($bdnf^{+/-}$) после ХНС в равной мере демонстрировали тревожное и депрессивно-подобное поведение. Тем не менее, крысы дикого типа лучше реагировали на антидепрессантную терапию, и в данном случае BDNF необходим для осуществления эффектов антидепрессантов и участвует в восстановлении нервной системы после стрессорных нагрузок (Ibarguen-vargas *et al.*, 2009).

Реакция на острый психоэмоциональный стресс у людей: сравнение здоровых испытуемых и пациентов с ТДС. Мы обнаружили неспецифическую стрессорную реакцию со стороны иммунной системы в крови в группе контроля и у пациентов с ТДС – практически в одинаковой степени понизилось содержание лимфоцитов и возрос уровень нейтрофилов в обеих группах после психоэмоционального стрессорного воздействия. Известно, что острый или хронический стресс, опосредуемый катехоламинами и стрессорными гормонами кортикостероидами, вызывает нарушения иммунной функции: снижение активности НК-клеток, пролиферацию лимфоцитов, выработку антител, активацию комплемента и изменение лейкоцитарной формулы (McKinnon *et al.*, 1989; Webster Marketon and Glaser, 2007). В частности, физические нагрузки и психоэмоциональный стресс вызывают увеличение процентного содержания нейтрофилов и снижение процентного содержания лимфоцитов в крови – как у людей, так и у экспериментальных животных (Cannon *et al.*, 1994; Dhabhar *et al.*, 1996; Hamaguchi *et al.*, 2001; Fujita *et al.*, 2002; Peake and Suzuki, 2004; Miller *et al.*, 2005; Webster Marketon and Glaser, 2007). Считают, что оба эффекта опосредуются через ГНС и глюкокортикоидные рецепторы (Dhabhar *et al.*, 1996). На процесс поступления в кровь нейтрофилов, по-видимому, оказывают модулирующее влияние провоспалительные цитокины (Hamaguchi *et al.*, 2001). Так как при депрессии повышен уровень кортизола, который влияет на распределение субпопуляций лейкоцитов, было бы логично предположить, что распределение субпопуляций лейкоцитов различается в группах здоровых испытуемых и пациентов с ТДС. Тем не менее, мы не обнаружили такой взаимосвязи. Более того, различий между соотношением лимфоцитов и нейтрофилов не выявили даже при сравнении здоровых испытуемых с когортами пациентов с депрессией, по-разному реагирующих на дексаметазоновый тест (Kronfol *et al.*, 1985). Несмотря на то, что введение кортикостерона или агониста ГР вызывает острые изменения в лейкоцитарной формуле (Dhabhar *et al.*, 1996),

хронические нарушения функционирования ГГНС, характерные для депрессии, не вызывают хронических изменений в лейкоцитарной формуле.

Увеличение содержания глюкозы через час после умеренного психо-эмоционального стресса мы детектировали только у пациентов с ТДС, но не у здоровых испытуемых. При этом наблюдаемый поведенческий эффект психоэмоционального стресса у испытуемых с ТДС и здоровых людей не различался: испытуемые с ТДС не выражали тревожность или обеспокоенность успехом выполнения задания. Увеличение содержания глюкозы, по-видимому, является следствием активации системы САС и усиления гликогенолиза под действием адреналина, т.е. в ответ на умеренный психоэмоциональный стресс у испытуемых с ТДС в большей степени, чем в контроле, произошла активация САС. Такая же стрессорная нагрузка не вызвала значимого ответа со стороны стресс-реализующих систем здоровых добровольцев. Таким образом, мы показали, что испытуемые с ТДС обладают повышенной чувствительностью к стрессу по этому показателю. В то же время меньшая реакция САС на стрессорную ситуацию, отраженная в меньшем увеличении уровня глюкозы, говорит о большей стрессоустойчивости здоровых испытуемых.

Повышение содержания кортизола (Sachar *et al.*, 1973) и АКТГ (Mortola *et al.*, 1987) в сыворотке крови при депрессии было показано в 70-80-е годы прошлого века и наши данные не противоречат этому давно известному факту. Впоследствии оказалось, что изменение циркулирующих уровней этих гормонов – только часть нарушений функционирования ГГНС. В настоящее время показано, что в патогенезе депрессии задействовано нарушение стрессорной реакции по уровням кортизола и АКТГ. Тем не менее, в настоящее время нет однозначной позиции относительно нарушений стрессорной реакции при депрессии: некоторые исследователи выявляют нарушения по гипо-, некоторые по гиперреактивному типу, либо нарушение проявляется только во время постстрессорного восстановления (Burke *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2005). В отдельных работах в принципе не обнаруживают никаких различий реактивности на психоэмоциональный стресс у пациентов с депрессией или тревожным расстройством и здоровых испытуемых (Young *et al.*, 2000; Takahashi *et al.*, 2005). У пациентов с депрессией в состоянии ремиссии также выявляют нарушение стрессорного ответа по типу гипореактивности уровня кортизола и АКТГ (Ahrens *et al.*, 2008). В исследовании реакции на психоэмоциональное стрессорное воздействие здоровых испытуемых было показано, что повышенная стрессорная реакция со стороны ГГНС ассоциирована с полиморфизмом гена транспортера серотонина (5-HTTLPR). У взрослых людей, переживших в детстве значительное стрессорное воздействие и являющихся гомозиготами по короткому аллельному варианту (s-аллель) гена 5-HTTLPR, была значительно повышена реакция на стрессор по уровню кортизола

(Alexander *et al.*, 2009). При измерении стрессорного изменения уровня кортизола показано, что на стрессорную реакцию также влияет метилирование ДНК в локусе K1TLG (локус, кодирующий фактор стволовых клеток (stem cell factor, SCF) – модуляторный цитокин) (Houteren *et al.*, 2016), которое может быть связано со стрессорными событиями, в особенности, в раннем детстве, и нарушением соотношения реакций метилирования и деметилирования ДНК. Метил-блокада гена K1TLG особенно выражена у людей, перенесших значительные стрессорные события в детском возрасте, а также обладала значительной корреляцией со стресс-реактивностью по уровню кортизола (Houteren *et al.*, 2016). Оценить индуцируемые стрессом изменения содержания кортизола и АКТГ в рамках нашего исследования не удалось по техническим причинам. Заборы крови проводили в утренние часы (в 8-9 утра), в этом интервале времени происходит наиболее резкое изменение (?) содержания данных гормонов в сыворотке крови (Mortola *et al.*, 1987). Соответственно, нет возможности разделить влияние стресса и циркадианные изменения.

В нашем исследовании содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНО α в сыворотке крови испытуемых с ТДС было повышено в исходном состоянии. При расстройствах тревожно-депрессивного спектра было неоднократно ранее показано повышение уровня провоспалительных маркеров (С-реактивного белка и провоспалительных цитокинов ИЛ1 α , ИЛ1 β , ИЛ2, ИЛ6, ФНО α) (O'Brien, Scott and Dinan, 2004; Miller *et al.*, 2005; Hoge *et al.*, 2009) и снижение содержания противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в сыворотке крови (Groer and Morgan, 2007). Так как на продукцию и уровень провоспалительных цитокинов может влиять большое количество факторов, в настоящее время нет представления о точном патогенетическом механизме, связанном с активацией системы провоспалительных цитокинов при тревожно-депрессивных патологиях. Тем не менее, уровень циркулирующих в крови провоспалительных цитокинов коррелирует с тяжестью и длительностью заболевания (Anisman and Merali, 2002). Показано, что острый эмоционально-когнитивный стресс вызывает увеличение содержания ИЛ-6 в крови у здоровых испытуемых через 75 минут после окончания стрессорной нагрузки (Brydon *et al.*, 2004). Психологический стресс у студентов (экзамен) вызывает увеличение в крови содержания ФНО α , ИЛ-6, антагониста рецептора ИЛ-1, интерферона гамма, ИЛ-10, ИЛ-4, причем у студентов с повышенной тревожностью было в меньшей степени выражено увеличение ИЛ-10 и ИЛ-4 (Maes *et al.*, 1998). Однако, исследований функционирования системы провоспалительных цитокинов при депрессии мало, и данные в литературе противоречивы. Miller *et al.* (2005) не выявили изменений циркулирующих уровней ИЛ-6 и ФНО α после психоэмоционального стресса ни у здоровых испытуемых, ни у людей с тревожно-депрессивной симптоматикой. Тем не менее, в этом исследовании продукция

провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы достоверно возросла после стресса – в одинаковой степени в обеих группах (Miller *et al.*, 2005). В нашем исследовании в результате стресс-теста содержание цитокина ИЛ-6 в сыворотке крови возросло у испытуемых с ТДС. У контрольных испытуемых уровень этих цитокинов не изменился в результате стресса. Содержание в сыворотке крови других провоспалительных цитокинов – ФНО α и ИЛ-1 β – не изменилось после стресса ни в контрольной группе, ни в группе пациентов с ТДС. Rase *et al.* опубликовали данные по стресс-индуцированному повышению ИЛ-6 у пациентов с клинической депрессией в 2006 г., однако их исследование было выполнено на 14 испытуемых и требовало верификации (Rase *et al.*, 2006). Возможно, как и в случае нарушения стрессорной реакции по содержанию кортизола в сыворотке крови, ключевую роль в дисрегуляции функционирования системы провоспалительных цитокинов играет аллостатическое программирование в детском возрасте. Было показано, что у пациентов с клинической депрессией, переживших значительные стрессорные события в детстве, выше базальный уровень ИЛ-6 в сыворотке крови (De Punder *et al.*, 2018). В исследовании на людях без психических расстройств продемонстрировали увеличение содержания ИЛ-6 в сыворотке крови после психо-эмоционального стресса у испытуемых с трудным детством или переживших стрессогенные события в детстве (Carpenter *et al.*, 2010). Кроме того, возможно, испытуемые обеих групп, у которых детектировали увеличение ИЛ-6 в сыворотке крови после острого стресса, реагируют на психо-эмоциональный стимул увеличением тонуса скелетной мускулатуры, так как показано, что ИЛ-6 может секретироваться скелетными мышцами при их сокращении (Steensberg *et al.*, 2002).

Диагностика тревожно-депрессивных патологий включает оценку чувств и мыслей, следовательно, полноценно моделировать это комплексное заболевание на животных невозможно. Понимая, что экспериментальная модель не способна полностью повторить картину заболевания, мы, тем не менее, можем изучать основные патологические механизмы. Причем точками пересечения модели и клиники являются изменения работы стресс-реализующих систем. То есть трансляция результатов, полученных на модели депрессии посредством НПС у крыс, позволяет исследовать это заболевание у людей максимально не инвазивно. Основное значение нашей работы – в обозначении важной роли периферических маркеров в диагностических и исследовательских задачах. В настоящее время уровень кортизола является одним из наиболее изучаемых периферических маркеров депрессии. Повышение уровня этого показателя при клинической депрессии обнаруживают в различных биологических жидкостях (Sachar *et al.*, 1973; Carroll *et al.*, 1976; Taskman *et al.*, 1980), при моделировании депрессии на животных этот показатель также продемонстрировал свою

потенциальную патогенетическую значимость. Тем не менее, клинические условия более сложные, чем экспериментальные, сопряжены с определенными ограничениями. В условиях отечественных клинических стационаров кортизол - не самый удобный патогенетический маркер, так как он подвержен значительным циркадианным колебаниям. В нашей работе, хотя мы и показали повышение уровня кортизола у пациентов с ТДС, тем не менее, ожидаемых результатов по стресс-чувствительности мы не получили. В то же время повышенную стрессорную чувствительность у пациентов с ТДС мы уверенно продемонстрировали по пост-стрессорному ответу одного из наиболее доступных биохимических показателей – уровню глюкозы в крови.

7 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе проведено исследование функциональных нарушений ГГНС, системы провоспалительных цитокинов и нейротрофических факторов у взрослых крыс, перенесших НПС. Осуществлено трансляционное сопоставление функционального состояния этих систем при тревожно-депрессивных патологиях у людей и на модели депрессии на животных. НПС вызывает функциональные и биохимические нарушения у взрослых животных, что выражается в возникновении тревожного и депрессивно-подобного поведения, которое сопровождается нарушением функционирования систем ГГНС, нейротрофических факторов и провоспалительных цитокинов. Некоторые нарушения в исследованных системах выявляются в исходном состоянии, а другие только при реализации стрессорного ответа. Исходный функциональный статус ГГНС и системы нейротрофинов у крыс после НПС характеризуется повышенным содержанием кортикостерона и пониженным уровнем BDNF в сыворотке крови и коре БП. Использование субхронического поведенческого стресса позволило выявить наиболее значимое последствие НПС у взрослых крыс - нарушение физиологической реакции на стресс, проявившееся в отсутствии повышения уровня кортикостерона в сыворотке крови и коре БП, которое происходило у контрольных животных после стресса. Более того, в результате реакции на стресс обнаружены специфические изменения уровня белка нейротрофических факторов, BDNF и NGF, в стресс-чувствительных регионах мозга и нарушение экспрессии мРНК ИЛ-6 в гиппокампе крыс после НПС.

У людей тревожно-депрессивная симптоматика также сопровождается нарушением состояния стресс-реализующих систем как на исходном уровне, так и в условиях стресса. У пациентов с ТДС детектировали исходное нарушение функционирования ГГНС (повышенный уровень кортикостерона и АКТГ), системы провоспалительных цитокинов (повышенный уровень ИЛ-6 и ФНО α) и отсутствие изменений в системе нейротрофических факторов (уровень BDNF). Стресс-индуцируемых изменений по уровню ИЛ-1 β и ФНО α в крови не наблюдали ни в контрольной группе, ни у пациентов с ТДС, а содержание ИЛ-6 в сыворотке крови увеличилось в обеих группах. Циркадианные изменения уровня кортизола и АКТГ не позволили выявить нарушение стрессорного ответа со стороны ГГНС на психоэмоциональный тест у пациентов с ТДС. Тем не менее, мы показали высокую репрезентативность для

выявления тревожно-депрессивных нарушений по стресс-индуцированному изменению содержания глюкозы в крови.

Таким образом, несмотря на различную этиологию возникновения тревожно-депрессивного состояния у больных и депрессивно-подобного поведения у крыс после НПС, общим нарушением среди исследованных стресс-реализующих систем является дисфункция ГГНС, а специфическим для модели депрессии – изменение функционирования системы нейротрофинов.

8 ВЫВОДЫ

- 1) Модели ХНС и НПС сопоставимы по индукции депрессивно-подобного поведения у взрослых крыс.
- 2) У крыс, перенесших НПС, увеличен исходный уровень кортикостерона в крови и коре БП, а также снижен исходный уровень BDNF в крови и коре БП.
- 3) У крыс с тревожным и депрессивно-подобным поведением нарушена физиологическая реакция на субхронический стресс в виде отсутствия увеличения кортикостерона в крови и коре БП, выявленного у крыс контрольной группы.
- 4) У пациентов с тревожно-депрессивной симптоматикой повышена исходная активность ГГНС (по уровню кортизола и АКТГ в крови) и системы провоспалительных цитокинов (по уровню ИЛ-6 и ФНО α), а также изменена реактивность на острое стрессорное воздействие.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

BDNF – brain derived neurothrophic factor

CRF - corticotropin releasing factor (кортиколиберин)

NGF – nerve growth factor

АКТГ – аденокортикостропный гормон

ГГНС – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система

ГР – глюкокортикоидные рецепторы

ГМ-КСФ – гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор

ДМТ – дексаметазоновый тест

ИМАО – ингибиторы моноаминоксидазы

ИЛ - интерлейкин

ИФγ – интерферон гамма

Кора БП – кора больших полушарий

ЛПС – бактериальный липополисахарид

МР – минералокортикоидные рецепторы

НПС – неонатальный провоспалительный стресс

САС – симпато-адреналовая система

СИОС – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина

ТДС – тревожно-депрессивная симптоматика

ФК – фронтальная кора головного мозга

ХНС – хронический непредсказуемый стресс

ЦНС – центральная нервная система

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Абрамец И.И. и др. Анализ нейрофизиологических и нейрохимических механизмов субсиндромов поведенческого депрессивного синдрома // Университетская Клиника. 2019. Vol. 2, № 31. P. 66–79.
- 2 Галямина А.Г. и др. Взаимосвязь депрессии и тревожности в развитии смешанного тревожно/депрессивного расстройства. Экспериментальное исследование механизмов коморбидности (обзор) // Журнал Высшей Нервной Деятельности Им И П Павлова. 2016. Vol. 66, № 2. P. 181–201.
- 3 Григорьян Г.А. и др. Стресс-реактивность и стресс-устойчивость в патогенезе депрессивных расстройств // Журнал Высшей Нервной Деятельности Им И П Павлова. 2015. Vol. 65, № 1. P. 19–32.
- 4 Гуляева Н.В. Фундаментальные И Трансляционные Аспекты Стресс-Реактивности Вентрального Гиппокампа: Функционально-Биохимические Механизмы Измененной Нейропластичности // Нейрохимия. 2015. Vol. 32, № 2. P. 101–111.
- 5 Гусакова Е.А., Городецкая И.В. Модель эмоционального стресса «дефицита времени» // Физиология. 2019. Vol. 18, № 1. P. 8–13.
- 6 Деркач К.В., Романова И.В., Шпаков А.О. Функциональное взаимодействие между дофаминовой и меланокортиновой системами мозга // Российский Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2016. Vol. 102, № 12. P. 1393–1405.
- 7 Дубровина Н.И. Угашение памяти о страхе в экспериментальных моделях депрессии // Успехи Физиологических Наук. 2011. Vol. 42, № 1. P. 53–66.
- 8 Узбеков М.Г., Максимова Н.М. Моноамино-гормональные связи в патогенезе тревожной депрессии // Журнал Неврологии и Психиатрии. 2015. Vol. 1, № 2. P. 52–55.
- 9 Шишкина Г.Т., Н.Н. Дыгало Глюкокортикоидная гипотеза депрессии: история и перспективы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Vol. 20, № 2. P. 198–203.
- 10 Ahrens T. et al. Pituitary-Adrenal and Sympathetic Nervous System Responses to Stress in Women Remitted From Recurrent Major Depression // Psychosom. Med. 2008. Vol. 70, № 4. P. 461–467.
- 11 Alexander N. et al. Gene — environment interactions predict cortisol responses after acute stress: Implications for the etiology of depression // Psychoneuroendocrinology. 2009. Vol. 34. P. 1294–1303.
- 12 Alonso J. et al. Prevalence of mental disorders in Europe: results from the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD) project. // Acta Psychiatr. Scand. 2004. Vol. 109, № 420. P. 21–27.
- 13 Andrade M.M.M. et al. Longitudinal study of daily variation of rats' behavior in the elevated plus-maze // Physiol. Behav. 2003. Vol. 78, № 1. P. 125–133.
- 14 Aneshensel C.S., Frerichs R.R., Huba G.J. Depression and physical illness: a multiwave, nonrecursive causal model // J Heal. Soc. Beh. 1984. Vol. 25, № 4. P. 350–371.
- 15 Angelucci F. et al. Mapping the differences in the brain concentration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) in an animal model of depression // Neurochemistry. 2000. Vol. 11, № 6. P. 1369–1373.
- 16 Anisman H., Merali Z. Cytokines, stress, and depressive illness // Brain. Behav. Immun. 2002. Vol. 16. P. 513–524.

- 17 Bale T.L., Vale W.W. CRF and CRF receptors: role in stress responsivity and other behaviors // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2004. Vol. 44, № 1. P. 525–557.
- 18 Bale T.L., Vale W.W. Increased depression-like behaviors in corticotropin-releasing factor receptor-2-deficient mice: sexually dichotomous responses. // *J. Neurosci.* 2003. Vol. 23, № 12. P. 5295–5301.
- 19 Banks W.A. The blood-brain barrier in psychoneuroimmunology // *Immunol. Allergy Clin. North Am.* Elsevier Ltd, 2009. Vol. 29, № 2. P. 223–228.
- 20 Bergström A. et al. Stress sensitivity and resilience in the chronic mild stress rat model of depression; an in situ hybridization study // *Brain Res.* 2008. Vol. 1196. P. 41–52.
- 21 Berton O. et al. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress // *Science* (80-.). 2006. Vol. 311, № 5762. P. 864–868.
- 22 Bilang-Bleuel A. et al. Psychological stress increases histone H3 phosphorylation in adult dentate gyrus granule neurons: Involvement in a glucocorticoid receptor-dependent behavioural response // *Eur. J. Neurosci.* 2005. Vol. 22, № 7. P. 1691–1700.
- 23 Bilbo S.D. et al. A behavioural characterization of neonatal infection-facilitated memory impairment in adult rats // *Behav. Brain Res.* 2006. Vol. 169, № 1. P. 39–47.
- 24 Bilbo S.D. et al. Early-life infection leads to altered BDNF and IL-1 β mRNA expression in rat hippocampus following learning in adulthood // *Brain. Behav. Immun.* 2008. Vol. 22, № 4. P. 451–455.
- 25 Bilbo S.D. et al. Neonatal infection induces memory impairments following an immune challenge in adulthood // *Behav. Neurosci.* 2005. Vol. 119, № 1. P. 293–301.
- 26 Binder E. et al. Regular voluntary exercise reduces anxiety-related behaviour and impulsiveness in mice // *Behav. Brain Res.* 2004. Vol. 155, № 2. P. 197–206.
- 27 Bluthé R.M. et al. Central injection of IL-10 antagonizes the behavioural effects of lipopolysaccharide in rats // *Psychoneuroendocrinology.* 1999. Vol. 24, № 3. P. 301–311.
- 28 Boguszewski P., Zagrodzka J. Emotional changes related to age in rats--a behavioral analysis. // *Behav. Brain Res.* 2002. Vol. 133, № 2. P. 323–332.
- 29 Boissé L., Mouihate A., Pittman Q.J. Long term alterations in neuroimmune responses of female rats after neonatal exposure to lipopolysaccharide // *Brain. Behav. Immun.* 2006. Vol. 20, № 4. P. 325–330.
- 30 Botchkina G.I. et al. Expression of TNF and TNF Receptors (p55 and p75) in the Rat Brain after Focal Cerebral Ischemia // *Mol. Med.* 1997. Vol. 3, № 11. P. 765–781.
- 31 Breder C.D. et al. Regional induction of tumor necrosis factor alpha expression in the mouse brain after systemic lipopolysaccharide administration. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1994. Vol. 91, № November. P. 11393–11397.
- 32 Breivik T. et al. Postnatal lipopolysaccharide-induced illness predisposes to periodontal disease in adulthood // *Brain. Behav. Immun.* 2002. Vol. 16, № 4. P. 421–438.
- 33 Bremner J.D. et al. MRI-based measurement of hippocampal volume in posttraumatic stress disorder // *Am. J. Psychiatry.* 1995. Vol. 152, № July. P. 973–981.
- 34 Brunoni A.R., Lopes M., Fregni F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2008. Vol. 11, № 08. P. 1169–1180.
- 35 Brydon L. et al. Socioeconomic status and stress-induced increases in interleukin-6 // *Brain Behav. Immun.* 2004. Vol. 18. P. 281–290.
- 36 Buka S.L. et al. Maternal cytokine levels during pregnancy and adult psychosis // *Brain. Behav. Immun.* 2001. Vol. 15, № 4. P. 411–420.
- 37 Burke H.M. et al. Depression and cortisol responses to psychological stress: A meta-analysis // *Psychoneuroendocrinology.* 2005. Vol. 30. P. 846–856.
- 38 Cabib S., Puglisi-Allegra S. The mesoaccumbens dopamine in coping with stress // *Neurosci. Biobehav. Rev.* Elsevier Ltd, 2012. Vol. 36, № 1. P. 79–89.

- 39 Cannon J.G. et al. Aging and stress-induced changes in complement activation and neutrophil mobilization // *J. Appl. Physiol.* 1994. Vol. 76, № 6. P. 2616–2620.
- 40 Cao C. et al. Endothelial cells of the rat brain vasculature express cyclooxygenase-2 mRNA in response to systemic interleukin-1beta: a possible site of prostaglandin synthesis responsible for fever // *Brain Res.* 1996. Vol. 733, № 2. P. 263–272.
- 41 Carmichael M.D. et al. Role of brain IL-1beta on fatigue after exercise-induced muscle damage // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006. Vol. 291, № 5. P. 1344–1348.
- 42 Carpenter L.L. et al. Association between plasma IL-6 response to acute stress and early-life adversity in healthy adults // *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group, 2010. Vol. 35, № 13. P. 2617–2623.
- 43 Carpenter L.L. et al. Decreased adrenocorticotropic hormone and cortisol responses to stress in healthy adults reporting significant childhood maltreatment. 2007.
- 44 Carroll B.J. et al. Urinary free cortisol excretion in depression // *Psychol. Med.* 1976. Vol. 6. P. 43–50.
- 45 Carroll B.J. The dexamethasone suppression test for melancholia. // *Br. J. Psychiatry.* 1982. Vol. 140. P. 292–304.
- 46 Carroll B.J., Curtis G.C., Mendels J. Cerebrospinal fluid and plasma free cortisol concentrations in depression // *Psychol. Med.* 1976. Vol. 6. P. 235–244.
- 47 Carroll B.J., Curtis G.C., Mendels J. Neuroendocrine regulation in depression // *Arch. Gen. Psychiatry.* 1976. Vol. 33, № 9. P. 1039.
- 48 Casacalenda N., Perry J.C., Looper K. Remission in major depressive disorder: A comparison of pharmacotherapy, psychotherapy, and control conditions // *Am. J. Psychiatry.* 2002. Vol. 159, № 8. P. 1354–1360.
- 49 Castagné V. et al. Rodent Models of Depression: Forced Swim and Tail Suspension Behavioral Despair Tests in Rats and Mice // *Curr. Protoc. Pharmacol.* 2010. Vol. 49, № 1. P. 1–14.
- 50 Chan S., Debono M. Replication of cortisol circadian rhythm: New advances in hydrocortisone replacement therapy // *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* 2010. Vol. 1, № 3. P. 129–138.
- 51 Chatkoff D.K., Maier K.J., Klein C. Nonlinear associations between chronic stress and cardiovascular reactivity and recovery // *Int. J. Psychophysiol.* Elsevier B.V., 2010. Vol. 77, № 2. P. 150–156.
- 52 Checkley S. Neuroendocrine mechanisms and the precipitation of depression by life events // *Br. J. Psychiatry.* 1992. Vol. 160, № FEB. SUPPL. 15. P. 7–17.
- 53 Chrousos G.P. The role of stress and the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the pathogenesis of the metabolic syndrome: neuro-endocrine and target tissue-related causes // *Int. J. Obes.* 2000. Vol. 24. P. 50–55.
- 54 Collins A. et al. Exercise improves cognitive responses to psychological stress through enhancement of epigenetic mechanisms and gene expression in the dentate gyrus // *PLoS One.* 2009. Vol. 4, № 1.
- 55 Coppen A. Biochemistry of affective disorders // *Brit J Psychiat.* 1971. № 113. P. 1237–1264.
- 56 Czyrak A., Chocyk A. Search for the presence of glucocorticoid receptors in dopaminergic neurons of rat ventral tegmental area and substantia nigra // *Pol. J. Pharmacol.* 2001. Vol. 53, № 6. P. 681–684.
- 57 Dammann O., Kuban K.C.K., Leviton A. Perinatal infection, fetal inflammatory response, white matter damage, and cognitive limitations in children born preterm // *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 2002. Vol. 8, № 1. P. 46–50.
- 58 Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications // *Ann. New York Acad. os Sci.* 2006. № 33. P. 222–234.
- 59 Dantzer R. Cytokine-Induced sickness behavior: where do we stand? // *Brain. Behav. Immun.* 2001. Vol. 15, № 1. P. 7–24.
- 60 Dantzer R. et al. Central administration of insulin-like growth factor- induced sickness

- behavior in mice // *Neuroreport*. 1999. Vol. 10, № 2. P. 289–292.
- 61 de Kloet E.R., Joëls M., Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2005. Vol. 6, № 6. P. 463–475.
- 62 De Kloet E.R., Molendijk M.L. Coping with the Forced Swim Stressor: Towards Understanding an Adaptive Mechanism // *Neural Plast.* 2016. Vol. 2016.
- 63 De La Garza II R., Mahoney III J.J. A distinct neurochemical profile in WKY rats at baseline and in response to acute stress: implications for animal models of anxiety and depression // *Brain Res.* 2004. Vol. 1021. P. 209–218.
- 64 De La Garza R. Endotoxin- or pro-inflammatory cytokine-induced sickness behavior as an animal model of depression: Focus on anhedonia // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2005. Vol. 29, № 4–5. P. 761–770.
- 65 De Pablo J.M. et al. Effects of diazepam, pentobarbital, scopolamine and the timing of saline injection on learned immobility in rats // *Physiol. Behav.* 1991. Vol. 50, № 5. P. 895–899.
- 66 De Pablo J.M. et al. Learned immobility explains the behavior of rats in the forced swimming test // *Physiol. Behav.* 1989. Vol. 46, № 2. P. 229–237.
- 67 de Paiva V.N. et al. Prostaglandins mediate depressive-like behaviour induced by endotoxin in mice // *Behav. Brain Res.* 2010. Vol. 215, № 1. P. 146–151.
- 68 De Punder K. et al. Inflammatory measures in depressed patients with and without a history of adverse childhood experiences // *Front. Psychiatry.* 2018. Vol. 9.
- 69 De Vries H. et al. Eicosanoid production by rat cerebral endothelial cells: stimulation by lipopolysaccharide, interleukin-1 and interleukin-6 // *J. Neuroimmunol.* 1995. Vol. 59, № 1–2. P. 1–8.
- 70 Dhabhar F.S. et al. Stress-induced changes in blood leukocyte distribution. Role of adrenal steroid hormones. // *J. Immunol.* 1996. Vol. 157. P. 1638–1644.
- 71 Dhabhar F.S., McEwen B.S. Acute Stress Enhances while Chronic Stress Suppresses Cell-Mediated Immunity in Vivo: A Potential Role for Leukocyte Trafficking // *Brain Behav. Immun.* 1997. Vol. 306, № 11. P. 286–306.
- 72 Dimeo F. et al. Benefits from aerobic exercise in patients with major depression: A pilot study // *Br. J. Sports Med.* 2001. Vol. 35, № 2. P. 114–117.
- 73 Dinarello C.A. Cytokines as Endogenous Pyrogens // *J. Infect. Dis.* 1999. Vol. 179, № s2. P. 294–304.
- 74 Dong H.-W. et al. Genomic–anatomic evidence for distinct functional domains in hippocampal field CA1 // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2009. Vol. 106, № 28. P. 11794–11799.
- 75 Doosti M.H. et al. Impacts of early intervention with fluoxetine following early neonatal immune activation on depression-like behaviors and body weight in mice // *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry.* Elsevier Inc., 2013. Vol. 43. P. 55–65.
- 76 Droste S.K. et al. Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level // *Neuroendocrinology.* 2007. Vol. 86, № 1. P. 26–37.
- 77 Durany N. et al. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 levels in Alzheimer ' s disease brains. 2000. Vol. 18. P. 807–813.
- 78 Echandía E.L.R. et al. A further analysis of behavioral and endocrine effects of unpredictable chronic stress // *Physiol. Behav.* 1988. Vol. 43, № 6. P. 789–795.
- 79 Edwards V.J. et al. Relationship between multiple forms of childhood maltreatment and adult mental health in community respondents: results from the adverse childhood experiences study // *Am J Psychiatry.* 2003. Vol. 160. P. 1453–1460.
- 80 Eisch A.J., Petrik D. Depression and Hippocampal Neurogenesis: a road to remission? // *Science (80-.).* 2012. Vol. 338, № October. P. 72–75.
- 81 Esler M. et al. Chronic mental stress is a cause of essential hypertension: presence of biological markers of stress // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2008. Vol. 35, № 4. P. 498–502.
- 82 Evans D.L. et al. Mood disorders in the medically ill : scientific review and recommendations

- // Biol. 2005. Vol. 58. P. 175–189.
- 83 Extein I., Pottash A.L.C., Gold M.S. Relationship of Thyrotropin-Releasing Hormone Test and Dexamethasone Suppression Test Abnormalities in Unipolar Depression // *Psychiatry Res.* 1981. Vol. 4. P. 49–53.
 - 84 Foley P., Kirschbaum C. Human hypothalamus-pituitary-adrenal axis responses to acute psychosocial stress in laboratory settings // *Neurosci. Biobehav. Rev.* Elsevier Ltd, 2010. Vol. 35, № 1. P. 91–96.
 - 85 Frankenhauser M., Patkai P. Interindividual differences in catecholamine excretion during stress // *Scand J Psychol.* 1965. Vol. 6. P. 117–123.
 - 86 French R. a et al. Expression and localization of p80 and p68 interleukin-1 receptor proteins in the brain of adult mice. // *J. Neuroimmunol.* 1999. Vol. 93, № 1–2. P. 194–202.
 - 87 Fujita Y. et al. Leptin inhibits stress-induced apoptosis of T lymphocytes // *Clin. Exp. Immunol.* 2002. Vol. 128, № 1. P. 21–26.
 - 88 Fuller E.A. et al. Neonatal immune activation depletes the ovarian follicle reserve and alters ovarian acute inflammatory mediators in neonatal rats // *Biol. Reprod.* 2017. Vol. 97, № 5. P. 719–730.
 - 89 Glaser R., Kiecolt-Glaser J.K. Science and society: Stress-induced immune dysfunction: implications for health // *Nat. Rev. Immunol.* 2005. Vol. 5, № 3. P. 243–251.
 - 90 Groer M.W., Morgan K. Immune, health and endocrine characteristics of depressed postpartum mothers // *Psychoneuroendocrinology.* 2007. Vol. 32, № 2. P. 133–139.
 - 91 Gutiérrez-Mecinas M. et al. Long-lasting behavioral responses to stress involve a direct interaction of glucocorticoid receptors with ERK1/2-MSK1-Elk-1 signaling // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2011. Vol. 108, № 33. P. 13806–13811.
 - 92 Hamaguchi M. et al. Mechanisms and roles of neutrophil infiltration in stress-induced gastric injury in rats // *Dig. Dis. Sci.* 2001. Vol. 46, № 12. P. 2708–2715.
 - 93 Hammen C. Stress and depression // *Annu Rev Clin Psychol.* 2005. № 1. P. 293–319.
 - 94 Hampson E. et al. Contribution of sex differences in the acute stress response to sex differences in water maze performance in the rat // *Behav. Brain Res.* 2004. Vol. 151, № 1–2. P. 239–253.
 - 95 Harmer C.J., Goodwin G.M., Cowen P.J. Why do antidepressants take so long to work? A cognitive neuropsychological model of antidepressant drug action // *Br. J. Psychiatry.* 2009. Vol. 195, № 2. P. 102–108.
 - 96 Hart B.L. Biological basis of the behavior of sick animals // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1988. Vol. 12, № 2. P. 123–137.
 - 97 Hecht H., Zerssen D. von, Wittchen H.U. Anxiety and depression in a community sample: The influence of comorbidity on social functioning // *J. Affect. Disord.* 1990. Vol. 18, № 2. P. 137–144.
 - 98 Heim C. et al. The dexamethasone/corticotropin-releasing factor test in men with major depression: role of childhood trauma // *Biol. Psychiatry.* 2008. Vol. 63, № 4. P. 398–405.
 - 99 Heim C., Binder E.B. Current research trends in early life stress and depression: Review of human studies on sensitive periods, gene-environment interactions, and epigenetics // *Exp. Neurol.* Elsevier Inc., 2012. Vol. 233, № 1. P. 102–111.
 - 100 Heuser I., Yassouridis A., Holsboer F. The combined dexamethasone/CRH test: A refined laboratory test for psychiatric disorders // *J. Psychiatr. Res.* 1994. Vol. 28, № 4. P. 341–356.
 - 101 Heuser I.J.E. et al. Pituitary-adrenal-system regulation and psychopathology during amitriptyne treatment in early depressed patients and normal comparison subjects // *Am J Psychiatry.* 1996. Vol. 153, № January. P. 93–99.
 - 102 Heyen J.R.R. et al. Interleukin (IL)-10 inhibits IL-6 production in microglia by preventing activation of NF- κ B // *Mol. Brain Res.* 2000. Vol. 77, № 1. P. 138–147.
 - 103 Hodgson D.M., Knott B., Walker F.R. Neonatal endotoxin exposure influences HPA

- responsivity and impairs tumor immunity in fischer 344 rats in adulthood // *Pediatr. Res.* 2001. Vol. 50, № 6. P. 750–755.
- 104 Hoge E.A. et al. Broad spectrum of cytokine abnormalities in Panic disorder and Posttraumatic stress disorder // *Depress. Anxiety.* 2009. Vol. 26, № 5. P. 447–455.
- 105 Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1996. Vol. 54, № 1. P. 21–30.
- 106 Hopkins S.J., Rothwell N.J. Cytokines and the nervous system I: expression and recognition // *Trends Neurosci.* 1995. Vol. 18, № 2. P. 83–88.
- 107 Houtepen L.C. et al. Genome-wide DNA methylation levels and altered cortisol stress reactivity following childhood trauma in humans // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7.
- 108 <http://mkb-10.com>.
- 109 Huang Z. et al. Curcumin reverses corticosterone-induced depressive-like behavior and decrease in brain BDNF levels in rats // *Neurosci. Lett.* Elsevier Ireland Ltd, 2011. Vol. 493, № 3. P. 145–148.
- 110 Ibarguen-vargas Y. et al. Deficit in BDNF does not increase vulnerability to stress but dampens antidepressant-like effects in the unpredictable chronic mild stress // *Behav. Brain Res.* 2009. Vol. 202. P. 245–251.
- 111 Izumoto Y., Inoue S., Yasuda N. Schizophrenia and the influenza epidemics of 1957 in Japan // *Biol. Psychiatry.* 1999. Vol. 46, № 1. P. 119–124.
- 112 Jacobs B.L., van Praag H., Gage F.H. Adult brain neurogenesis and psychiatry: A novel theory of depression // *Mol. Psychiatry.* 2000. Vol. 5, № 3. P. 262–269.
- 113 Jacobson L., Sapolsky R. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis // *Endocr. Rev.* 1991. Vol. 12, № 2. P. 118–134.
- 114 Jacobson L., Sapolsky R. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis // *Endocr. Rev.* 1991. Vol. 12, № 2. P. 118–134.
- 115 Jarvis C.R. et al. Neurotrophin Modulation of NMDA Receptors in Cultured Murine and Isolated Rat Neurons // *Am. Physiol. Soc.* 1997. Vol. 78, № 5. P. 2363–2371.
- 116 Jefferys D. et al. Behavioural effect of adrenalectomy: Reversal by glucocorticoids or [D-ALA², MET⁵]enkephalinamide // *Eur. J. Pharmacol.* 1983. Vol. 92, № 1–2. P. 99–103.
- 117 Kaffman A., Meaney M.J. Neurodevelopmental sequelae of postnatal maternal care in rodents: Clinical and research implications of molecular insights // *J. Child Psychol. Psychiatry Allied Discip.* 2007. Vol. 48, № 3–4. P. 224–244.
- 118 Katz R.J. Animal model of depression: Pharmacological sensitivity of a hedonic deficit // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1982. Vol. 16, № 6. P. 965–968.
- 119 Kentner A.C. et al. Sex-dependent effects of neonatal inflammation on adult inflammatory markers and behavior // *Endocrinology.* 2010. Vol. 151, № 6. P. 2689–2699.
- 120 Kerr B.J. et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulates Nociceptive Sensory Inputs and NMDA-Evoked Responses in the Rat Spinal Cord // *J. Neurosci.* 1999. Vol. 19, № 12. P. 5138–5148.
- 121 Kim J.J. et al. Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning // *J. Neurosci.* 2001. Vol. 21, № 14. P. 5222–5228.
- 122 Klein A.B. et al. Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2011. Vol. 14, № 03. P. 347–353.
- 123 Kohman R.A. et al. Neonatal endotoxin exposure impairs avoidance learning and attenuates endotoxin-induced sickness behavior and central IL-1 β gene transcription in adulthood // *Behav. Brain Res.* 2008. Vol. 194, № 1. P. 25–31.
- 124 Kompagne H. et al. Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats // *Behav. Brain Res.* 2008. Vol. 193, № 2. P. 311–314.
- 125 Konsman J.P. et al. Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by

- peripheral inflammatory stimuli // *J. Comp. Neurol.* 2004. Vol. 472, № 1. P. 113–129.
- 126 Koonsman J.P., Parnet P., Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications // *Trends Neurosci.* 2002. Vol. 25, № 3. P. 154–159.
- 127 Korte S.M. et al. Antisense to the glucocorticoid receptor in hippocampal dentate gyrus reduces immobility in forced swim test // *Eur. J. Pharmacol.* 1996. Vol. 301, № 1–3. P. 19–25.
- 128 Krishnah K.R.R. et al. Pituitary size in depression // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1991. Vol. 72, № 2. P. 256–259.
- 129 Kronfol Z. et al. Depression, cortisol metabolism and lymphocytopenia // *J. Affect. Disord.* 1985. Vol. 9, № 2. P. 169–173.
- 130 Kuma H. et al. Early maternal deprivation induces alterations in brain-derived neurotrophic factor expression in the developing rat hippocampus // *Neurosci. Lett.* 2004. Vol. 372, № February 2018. P. 68–73.
- 131 Kupfer D.J., Frank E. Comorbidity in depression // *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2003. Vol. 108, № 418. P. 57–60.
- 132 Laaris N. et al. Glucocorticoid receptor-mediated inhibition by corticosterone of 5-HT_{1A} autoreceptor functioning in the rat dorsal raphe nucleus // *Neuropharmacology.* 1995. Vol. 34, № 9. P. 1201–1210.
- 133 Ladd C.O. et al. Differential neuroendocrine responses to chronic variable stress in adult Long Evans rats exposed to handling-maternal separation as neonates // *Psychoneuroendocrinology.* 2005. Vol. 30, № 6. P. 520–533.
- 134 Laye S. et al. Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine transcripts in the brain and pituitary of mice // *Mol. Brain Res.* 1994. Vol. 27, № 1. P. 157–162.
- 135 Lee K.Y. et al. Neonatal repetitive maternal separation causes long-lasting alterations in various neurotrophic factor expression in the cerebral cortex of rats // *Life Sci. Elsevier Inc.*, 2012. Vol. 90, № 15–16. P. 578–584.
- 136 Lenzé E.J. et al. Comorbid anxiety disorders in depressed elderly patients // *Am. J. Psychiatry.* 2000. Vol. 157, № 5. P. 722–728.
- 137 Levinson D.F. The genetics of depression: a review // *Biol. Psychiatry.* 2005. P. 1–9.
- 138 Lewin G.R. Neurotrophins and the specification of neuronal phenotype. // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1996. Vol. 351, № 1338. P. 405–411.
- 139 Li M., Han F., Shi Y. Expression of locus coeruleus mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in rats under single-prolonged stress // *Neurol. Sci.* 2011. Vol. 32, № 4. P. 625–631.
- 140 Lindert J. et al. Sexual and physical abuse in childhood is associated with depression and anxiety over the life course: Systematic review and meta-analysis // *Int. J. Public Health.* 2014. Vol. 59, № 2. P. 359–372.
- 141 Linthorst A.C.E. et al. Forced swim stress activates rat hippocampal serotonergic neurotransmission involving a corticotropin-releasing hormone receptor-dependent mechanism // *Eur. J. Neurosci.* 2002. Vol. 16, № 12. P. 2441–2452.
- 142 Lippmann M. et al. Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats // *Eur. J. Neurosci.* 2007. Vol. 25, № 10. P. 3091–3098.
- 143 Lizardi H. et al. Reports of the Childhood Home Environment in Early-Onset Dysthymia and Episodic Major Depression // *J. Abnorm. Psychol.* 1995. Vol. 104, № 1. P. 132–139.
- 144 Low C.A., Salomon K., Matthews K.A. Chronic life stress, cardiovascular reactivity, and subclinical cardiovascular disease in adolescents // *Psychosom. Med.* 2009. Vol. 71, № 9. P. 927–931.
- 145 Lu B. Pro-Region of Neurotrophins: Role in Synaptic Modulation // *Neuron.* 2003. Vol. 39, № 5. P. 735–738.
- 146 M.M. W., Weissman M.M., Olfson M. Depression in women: Implications for health care

- research // *Science* (80-.). 1995. Vol. 269, № 5225. P. 799–801.
- 147 Maddock C., Pariante C.M. How does stress affect you? An overview of stress, immunity, depression and disease // *Epidemiol. Psychiatr. Soc.* 2001. Vol. 10, № 3. P. 153–162.
- 148 Maes M. et al. The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety // *Cytokine*. 1998. Vol. 1, № 1. P. 313–318.
- 149 Maheu F.S. et al. Differential effects of adrenergic and corticosteroid hormonal systems on human short- and long-term declarative memory for emotionally arousing material. // *Behav. Neurosci.* 2004. Vol. 118, № 2. P. 420–428.
- 150 Maier S.F. et al. The role of the vagus nerve in cytokine-to-brain communication // *Ann. New York Acad. os Sci.* 1998. P. 289–300.
- 151 Malik-Hall M., Dina O.A., Levine J.D. Primary afferent nociceptor mechanisms mediating NGF-induced mechanical hyperalgesia // *Eur. J. Neurosci.* 2005. Vol. 21, № 12. P. 3387–3394.
- 152 Manni L. et al. Neonatal handling in eae-susceptible rats alters NGF levels and mass cell distribution in the brain // *Int. J. Devl Neurosci.* 1998. Vol. 16. P. 1–8.
- 153 Marais L. et al. Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus // *Neurosci. Res.* 2008. Vol. 61, № 1. P. 106–112.
- 154 Maria E. et al. Stress, depression, the immune system, and cancer // *Lancet*. 2004. Vol. 5, № October. P. 617–625.
- 155 Marsland A.L. et al. The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis // *Brain. Behav. Immun.* 2017. Vol. 64. P. 208–219.
- 156 Mason J.W. A review of psychoendocrine research on the sympathetic-adrenal medullary system. // *Psychosom. Med.* 1968. Vol. 30, № 5. P. Suppl:631-653.
- 157 Matsumura K. et al. Mapping of prostaglandin E2 binding sites in rat brain using quantitative autoradiography. // *Brain Res.* 1992. Vol. 581, № 2. P. 292–298.
- 158 Mayberg H.S. et al. Deep Brain Stimulation for Treatment-Resistant Depression ing electrical stimulation of the subgenual cingulate // *Neuron*. 2005. Vol. 45. P. 651–660.
- 159 Mayer E.A. et al. Stress and the gastrointestinal tract V. stress and irritable bowel syndrome // *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.* 2001. Vol. 280, № 519–524.
- 160 Mc Ewnn B.S. Stress, Adaptation, and Disease // *Ann. New York Acad. os Sci.* 1998. Vol. 1, № 840. P. 33–44.
- 161 McAfoose J., Baune B.T. Evidence for a cytokine model of cognitive function // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2009. Vol. 33, № 3. P. 355–366.
- 162 McAllister A.K., Katz L.C., Lo D.C. Opposing roles for endogenous BDNF and NT-3 in regulating cortical dendritic growth // *Neuron*. 1997. Vol. 18, № 5. P. 767–778.
- 163 McCormick C.M., Smith C., Mathews I.Z. Effects of chronic social stress in adolescence on anxiety and neuroendocrine response to mild stress in male and female rats // *Behav. Brain Res.* 2008. Vol. 187, № 2. P. 228–238.
- 164 McCoy M.K., Tansey M.G. TNF signaling inhibition in the CNS: Implications for normal brain function and neurodegenerative disease // *J. Neuroinflammation*. 2008. Vol. 5. P. 1–13.
- 165 Mcdonald E.M., Mann A.H., Thomas H.C. Interferons as mediators of psychiatric morbidity // *Lancet*. 1987. Vol. 21. P. 1175–1178.
- 166 McKinney B.Y.W.T., Suomi S.J., Harlow H.F. Depression in primates // *Amer J. Psychiat.* 1971. Vol. 127, № 10. P. 49–56.
- 167 McKinney W.T., Bunney W.E. Animal model of depression // *Arch Gen Psychiatry*. 1969. Vol. 21. P. 240–248.
- 168 McKinnon W. et al. Chronic Stress, Leukocyte Subpopulations , and Humoral Response to Latent Viruses // *Heal. Psychol.* 1989. Vol. 4, № 8. P. 389–402.

- 169 Mendell L.M., Johnson R.D., Munson J.B. Neurotrophin Modulation of the Monosynaptic Reflex after Peripheral Nerve Transection // *J. Neurosci.* 1999. Vol. 19, № 8. P. 3162–3170.
- 170 Meyer U. et al. Chronic Psychosocial Stress Regulates the Expression of Both GR and MR mRNA in the Hippocampal Formation of Tree Shrews // *Hippocampus.* 2001. Vol. 11. P. 329–336.
- 171 Miller G.E. et al. Clinical Depression and Regulation of the Inflammatory Response During Acute Stress // *Psychosom. Med.* 2005. Vol. 67. P. 679–687.
- 172 Mizoguchi K. et al. CHRONIC STRESS ATTENUATES GLUCOCORTICOID NEGATIVE FEEDBACK : INVOLVEMENT OF THE PREFRONTAL CORTEX AND HIPPOCAMPUS // *Neuroscience.* 2003. Vol. 119. P. 887–897.
- 173 Molendijk M.L., de Kloet E.R. Coping with the forced swim stressor: Current state-of-the-art // *Behav. Brain Res. Elsevier B.V.,* 2019. Vol. 364. P. 1–10.
- 174 Molendijk M.L., de Kloet E.R. Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression // *Psychoneuroendocrinology.* Elsevier Ltd, 2015. Vol. 62. P. 389–391.
- 175 Moreau J.L. et al. Antidepressant treatment prevents chronic unpredictable mild stress-induced anhedonia as assessed by ventral tegmentum self-stimulation behavior in rats // *Eur. Neuropsychopharmacol.* 1992. Vol. 2, № 1. P. 43–49.
- 176 Mortola J.F. et al. Pulsatile rhythms of adrenocorticotropin (ACTH) and cortisol in women with endogenous depression: Evidence for increased ACTH pulse frequency // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1987. Vol. 65, № 5. P. 962–968.
- 177 Murakami S. et al. Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly // *Neurosci. Res.* 2005. Vol. 53, № 2. P. 129–139.
- 178 Murray C.A., Lynch M.A. Evidence That Increased Hippocampal Expression of the Cytokine Interleukin-1 β Is a Common Trigger for Age- and Stress-Induced Impairments in Long-Term Potentiation // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18, № 8. P. 2974–2981.
- 179 Nelson E.C. et al. Association between self-reported childhood sexual abuse and adverse psychosocial outcomes: Results from a twin study // *Arch. Gen. Psychiatry.* 2002. Vol. 59, № 2. P. 139–145.
- 180 Nestler E.J., Hyman S.E. Animal models of neuropsychiatric disorders // *Nat. Neurosci. Nature Publishing Group,* 2010. Vol. 13, № 10. P. 1161–1169.
- 181 Nguyen K.T. et al. Exposure to acute stress induces brain interleukin-1 β protein in the rat // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18, № 6. P. 2239–2246.
- 182 Niiranen A. et al. Behavioral assessment of patients treated with alpha-interferon // *Acta Psychiatr Scand.* 1988. Vol. 78, № 3. P. 622–626.
- 183 Nilsson C. et al. Postnatal endotoxin exposure results in increased insulin sensitivity and altered activity of neuroendocrine axes in adult female rats // *Eur. J. Endocrinol.* 2002. Vol. 146, № 2. P. 251–260.
- 184 Nolen-Hoeksema S. Gender differences in depression // *Curr. Dir. Psychol. Sci.* 2001. Vol. 10, № 5. P. 173–176.
- 185 Nowacka M.M. et al. LPS reduces BDNF and VEGF expression in the structures of the HPA axis of chronic social stressed female rats // *Neuropeptides.* Elsevier Ltd, 2015. Vol. 54. P. 17–27.
- 186 Nutt D. et al. The other face of depression, reduced positive affect: the role of catecholamines in causation and cure // *J. Psychopharmacol.* 2007. Vol. 21, № 5. P. 461–471.
- 187 O'Brien S.M., Scott L. V., Dinan T.G. Cytokines: Abnormalities in major depression and implications for pharmacological treatment // *Hum. Psychopharmacol.* 2004. Vol. 19, № 6. P. 397–403.
- 188 O'Reardon J.P., Brunswick D.J., Amsterdam J.D. Treatment-resistant depression in the age of serotonin: evolving strategies // *Curr. Opin. Psychiatry.* 2000. Vol. 13, № 1. P. 93–98.
- 189 Ong L.K. et al. Early life peripheral lipopolysaccharide challenge reprograms

- catecholaminergic neurons // *Sci. Rep.* Nature Publishing Group, 2017. Vol. 7, № June 2016. P. 1–6.
- 190 Opel N. et al. Mediation of the influence of childhood maltreatment on depression relapse by cortical structure: a 2-year longitudinal observational study // *The Lancet Psychiatry*. 2019. Vol. 6, № 4. P. 318–326.
- 191 Oquendo M. a et al. Inadequacy of antidepressant treatment for patients with major depression who are at risk for suicidal behavior. // *Am. J. Psychiatry*. 1999. Vol. 156, № 2. P. 190–194.
- 192 Pace T.W.W. et al. Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress // *Am J Psychiatry*. 2006. Vol. 163. P. 1630–1633.
- 193 Pan W., Kastin A.J. TNF α transport across the blood-brain barrier is abolished in receptor knockout mice // *Exp. Neurol*. 2002. Vol. 174, № 2. P. 193–200.
- 194 Papaioannou A. et al. Sex differences in the effects of neonatal handling on the animal's response to stress and the vulnerability for depressive behaviour // *Behav. Brain Res*. 2002. Vol. 129, № 1–2. P. 131–139.
- 195 Papp M. et al. Dopaminergic mechanisms in memory consolidation and antidepressant reversal of a chronic mild stress-induced cognitive impairment` // *Psychopharmacology (Berl)*. *Psychopharmacology*, 2017. Vol. 234, № 17. P. 2571–2585.
- 196 Papp M., Willner P., Muscat R. An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress // *Psychopharmacology (Berl)*. 1991. P. 255–259.
- 197 Pare W.P., Redei E. Depressive behavior and stress ulcer in Wistar Kyoto rats // *J Physiol*. 1993. Vol. 87. P. 229–238.
- 198 Pariante C.M., Miller A.H. Glucocorticoid receptors in major depression: Relevance to pathophysiology and treatment // *Biol. Psychiatry*. 2001. Vol. 49, № 5. P. 391–404.
- 199 Parnet P. et al. Expression and regulation of interleukin-1 receptors in the brain. Role in cytokines-induced sickness behavior // *J. Neuroimmunol*. 2002. Vol. 125, № 1–2. P. 5–14.
- 200 Paykel E.S. Achieving gains beyond response // *Acta Psychiatr Scand*. 2002. Vol. 106. P. 12–17.
- 201 Paykel E.S. et al. Residual symptoms after partial remission: an important outcome in depression // *Psychiatry Res*. 1995. Vol. 25. P. 1171–1180.
- 202 Peake J., Suzuki K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress // *Exerc. Immunol. Rev*. 2004. № May. P. 129–141.
- 203 Pellow S. et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat // *J. Neurosci. Methods*. 1985. Vol. 14, № 3. P. 149–167.
- 204 Pinheiro R.M.C. et al. Long-lasting recognition memory impairment and alterations in brain levels of cytokines and BDNF induced by maternal deprivation: effects of valproic acid and topiramate // *J. Neural Transm*. 2014. Vol. 122, № 5. P. 709–719.
- 205 Porcelli A.J., Lewis A.H., Delgado M.R. Acute stress influences neural circuits of reward processing // *Front. Neurosci*. 2012. Vol. 6, № NOV. P. 1–9.
- 206 Porsolt R.D., Bertin A., Jalfre M. “Behavioural despair” in rats and mice: Strain differences and the effects of imipramine // *Eur. J. Pharmacol*. 1978. Vol. 51, № 3. P. 291–294.
- 207 Quan N., Whiteside M., Herkenham M. Time course and localization patterns of interleukin-1 β messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide // *Neuroscience*. 1998. Vol. 83, № 1. P. 281–293.
- 208 Raison C.L., Capuron L., Miller A.H. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression // *Trends Immunol*. 2006. Vol. 27, № 1. P. 24–31.
- 209 Rao U. et al. Hippocampal Changes Associated with Early-Life Adversity and Vulnerability to Depression // *Biol. Psychiatry*. Elsevier Inc., 2010. Vol. 67, № 4. P. 357–364.
- 210 Reul J.M.H.M., Chandramohan Y. Epigenetic mechanisms in stress-related memory formation

- // Psychoneuroendocrinology. 2007. Vol. 32, № SUPPL 1. P. 21–25.
- 211 Reul J.M.H.M., De Kloet E.R. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation // *Endocrinology*. 1985. Vol. 117, № 6. P. 2505–2511.
- 212 Réus G.Z. et al. Maternal deprivation induces depressive-like behaviour and alters neurotrophin levels in the rat brain // *Neurochem. Res.* 2011. Vol. 36, № 3. P. 460–466.
- 213 Roceri M. et al. Postnatal repeated maternal deprivation produces age-dependent changes of brain-derived neurotrophic factor expression in selected rat brain regions // *Biol. Psychiatry*. 2004. Vol. 55, № 7. P. 708–714.
- 214 Romeo H.E. et al. The glossopharyngeal nerve as a novel pathway in immune-to-brain communication: relevance to neuroimmune surveillance of the oral cavity // *J. Neuroimmunol.* 2001. Vol. 115, № 1–2. P. 91–100.
- 215 Roozendaal B., McGaugh J.L. Basolateral amygdala lesions block the memory enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats // *Eur. J. Neurosci.* 1997. Vol. 9, № 1. P. 76–83.
- 216 Roozendaal B., McGaugh J.L. Glucocorticoid receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. // *Neurobiol. Learn. Mem.* 1997. Vol. 67, № 2. P. 176–179.
- 217 Rosenfeld P. et al. Maternal regulation of the adrenocortical response in preweanling rats // *Physiol. Behav.* 1991. Vol. 50, № 4. P. 661–671.
- 218 Rossi C. et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment // *Eur. J. Neurosci.* 2006. Vol. 24, № 7. P. 1850–1856.
- 219 Rothwell N.J., Hopkins S.J. Cytokines and the nervous system II: actions and mechanisms of action // *Trends Neurosci.* 1995. Vol. 18, № 3. P. 130–136.
- 220 Sachar E.J. et al. Disrupted 24-hour patterns of cortisol secretion in psychotic depression // *Arch. Gen. Psychiatry*. 1973. Vol. 28, № 1. P. 19–24.
- 221 Sandmire H.F., Austin S.D., Bechtel R.C. Depression and Other Common Mental Disorders // World Heal. Organ. 2017.
- 222 Sapolsky R.M., Meaney M.J. Maturation of the adrenocortical stress response: Neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period // *Brain Res. Rev.* 1986. Vol. 11, № 1. P. 65–76.
- 223 Scharfman H. et al. Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats // *Exp. Neurol.* 2005. Vol. 192, № 2. P. 348–356.
- 224 Schiltz J.C., Sawchenko P.E. SIGNALING THE BRAIN IN SYSTEMIC INFLAMMATION: THE ROLE OF PERIVASCULAR CELLS // *Front. Biosci.* 2003. Vol. 8. P. 1321–1329.
- 225 Schinder A.F., Poo M. ming. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity // *Trends Neurosci.* 2000. Vol. 23, № 12. P. 639–645.
- 226 Schmidt-Kastner R., Wetmore C., Olson L. Comparative study of brain-derived neurotrophic factor messenger RNA and protein at the cellular level suggests multiple roles in hippocampus, striatum and cortex // *Neuroscience*. 1996. Vol. 74, № 1. P. 161–183.
- 227 Schobitz B., Voorhuis D.A.M., Kloet E.R. De. Localization of interleukin 6 mRNA and interleukin 6 receptor mRNA in rat brain // *Neurosci. Lett.* 1992. Vol. 136. P. 189–192.
- 228 Schulberg H.C., McClelland M. Depression and physical illness: the prevalence, causation, and diagnosis of comorbidity // *Clin. Psychol. Rev.* 1987. Vol. 7, № 85. P. 145–167.
- 229 Scott L. V., Dinan T.G. Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: Implications for the pathophysiology of depression // *Life Sci.* 1998. Vol. 62, № 22. P. 1985–1998.
- 230 Seay B., Hansen E., Harlow H.F. Mother-Infant Separation in Monkeys // *J. Child Psychol.*

- Psychiatry. 1962. Vol. 3, № 3–4. P. 123–132.
- 231 Shalev U., Kafkafi N. Repeated maternal separation does not alter sucrose-reinforced and open-field behaviors // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2002. Vol. 73, № 1. P. 115–122.
- 232 Shanks N. et al. Early-life exposure to endotoxin alters hypothalamic-pituitary-adrenal function and predisposition to inflammation. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2000. Vol. 97, № 10. P. 5645–5650.
- 233 Shanks N., Larocque S., Meaney M.J. Neonatal endotoxin exposure alters the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: early illness and later responsivity to stress. // *J. Neurosci.* 1995. Vol. 15, № 1 Pt 1. P. 376–384.
- 234 Sheline Y.I. et al. Hippocampal atrophy in recurrent major depression // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1996. Vol. 93, № 9. P. 3908–3913.
- 235 Shimizu E. et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants // *Biol. Psychiatry.* 2003. Vol. 54, № 1. P. 70–75.
- 236 Shoval G., Weizman A. The possible role of neurotrophins in the pathogenesis and therapy of schizophrenia. 2005. Vol. 15. P. 319–329.
- 237 Siegel G. et al. *Basic neurochemistry. Molecular, cellular, and medical aspects.* 7th ed. / ed. Albers R.W. London: Elsevier Academic Press, 2006.
- 238 Siuciak J.A. et al. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1997. Vol. 56, № 1. P. 131–137.
- 239 Slattery D.A., Cryan J.F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents // *Nat. Protoc.* Nature Publishing Group, 2012. Vol. 7, № 6. P. 1009–1014.
- 240 Smith D. et al. Efficacy and tolerability of venlafaxine compared with selective serotonin reuptake inhibitors and with selective serotonin reuptake inhibitors and other antidepressants: a meta-analysis // *Br. J. Psychiatry.* 2002. Vol. 180. P. 396–404.
- 241 Smith R.S. The macrophage theory of depression // *Med. Hypotheses.* 1991. Vol. 35, № 4. P. 298–306.
- 242 Snyder J.S. et al. Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour // *Letter.* 2011. P. 458–462.
- 243 Sominsky L. et al. Functional Programming of the Autonomic Nervous System by Early Life Immune Exposure: Implications for Anxiety // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, № 3.
- 244 Sominsky L. et al. Increased microglial activation in the rat brain following neonatal exposure to a bacterial mimetic // *Behav. Brain Res.* Elsevier B.V., 2012. Vol. 226, № 1. P. 351–356.
- 245 Sominsky L. et al. Neonatal immune challenge alters reproductive development in the female rat // *Horm. Behav.* Elsevier Inc., 2012. Vol. 62, № 3. P. 345–355.
- 246 Sominsky L. et al. Postnatal exposure to a bacterial mimetic increases microglial activation and histone H3 acetylation in rats // *Brain. Behav. Immun.* Elsevier Inc., 2011. Vol. 25. P. 182.
- 247 Sparkman N.L. et al. Interleukin-6 facilitates lipopolysaccharide-induced disruption in working memory and expression of other proinflammatory cytokines in hippocampal neuronal cell layers. // *J. Neurosci.* 2006. Vol. 26, № 42. P. 10709–10716.
- 248 Spencer S.J. et al. Early-life immune challenge: Defining a critical window for effects on adult responses to immune challenge // *Neuropsychopharmacology.* 2006. Vol. 31, № 9. P. 1910–1918.
- 249 Spencer S.J., Heida J.G., Pittman Q.J. Early life immune challenge - Effects on behavioural indices of adult rat fear and anxiety // *Behav. Brain Res.* 2005. Vol. 164, № 2. P. 231–238.
- 250 Spriggs D.R. et al. Recombinant Human Tumor Necrosis Factor Administered as a 24-Hour Intravenous Infusion. A Phase I and Pharmacologic Study // *J. Natl. Cancer Inst.* 1988. Vol. 80, № 13. P. 1039–1044.
- 251 Steiner A.A. et al. Cellular and molecular bases of the initiation of fever // *PLoS Biol.* 2006. Vol. 4, № 9. P. 1517–1524.

- 252 Steptoe A. et al. Acute mental stress elicits delayed increases in circulating inflammatory cytokine levels // *Clin. Sci.* 2001. Vol. 101. P. 185–192.
- 253 Steptoe A. et al. The effects of exercise training on mood and perceived coping ability in anxious adults from the general population // *J. Psychosom. Res.* 1989. Vol. 33, № 5. P. 537–547.
- 254 Stoll B.J. et al. Neurodevelopmental and Growth Impairment Among Extremely Low-Birth-Weight Infants With Neonatal Infection // *Jama.* 2004. Vol. 292, № 19. P. 2357.
- 255 Takahashi T. et al. Anxiety, reactivity, and social stress-induced cortisol elevation in humans // *Neuroendocrinol. Lett.* 2005. Vol. 26, № 4. P. 351–354.
- 256 Taskman L. et al. Cortisol in the CSF of depressed and suicidal patients // *Arch Gen Psychiatry.* 1980. Vol. 37. P. 761–767.
- 257 Thase M.E. et al. Relapse after cognitive behavior therapy of depression: potential implications for longer courses of treatment // *Am J Psychiatry.* 1992. Vol. 149. P. 1046–1052.
- 258 Thase M.E., Entsuah A.R., Rudolph R.L. Remission rates during treatment with venlafaxine or selective serotonin reuptake inhibitors // *Brit J Psychiat.* 2001. Vol. 178. P. 234–241.
- 259 Tishkina A. et al. Neonatal proinflammatory challenge in male Wistar rats: Effects on behavior, synaptic plasticity, and adrenocortical stress response // *Behav. Brain Res. Elsevier B.V.*, 2016. Vol. 304. P. 1–10.
- 260 Tucker K., Fadool D.A. Neurotrophin modulation of voltage-gated potassium channels in rat through TrkB receptors is time and sensory experience dependent // *J. Physiol.* 2002. Vol. 542, № 2. P. 413–429.
- 261 Tye K.M. et al. Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour // *Nature. Nature Publishing Group*, 2013. Vol. 493, № 7433. P. 537–541.
- 262 Ueyama T. et al. Immobilization stress reduced the expression of neurotrophins and their receptors in the rat brain. // *Neurosci. Res.* 1997. Vol. 28. P. 103–110.
- 263 Üstün T.B. et al. Global burden of depressive disorders in the year 2000 // *Br. J. Psychiatry.* 2004. Vol. 184, № MAY. P. 386–392.
- 264 Uysal N. et al. Maternal exercise decreases maternal deprivation induced anxiety of pups and correlates to increased prefrontal cortex BDNF and VEGF // *Neurosci. Lett. Elsevier Ireland Ltd*, 2011. Vol. 505, № 3. P. 273–278.
- 265 Vaidya V.A., Terwilliger R.M., Duman R.S. Role of 5-HT_{2A} receptors in the stress-induced down-regulation of brain-derived neurotrophic factor expression in rat hippocampus // *Neurosci Lett.* 1999. Vol. 262, № 1. P. 1–4.
- 266 van Praag H. et al. learning, Running in mice and long-term // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1999. Vol. 96, № 23. P. 13427–13431.
- 267 Vázquez D.M. et al. Regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNAs in the hippocampus of the maternally deprived infant rat // *Brain Res.* 1996. Vol. 731, № 1–2. P. 79–90.
- 268 Verma S. et al. Release of cytokines by brain endothelial cells: A polarized response to lipopolysaccharide // *Brain. Behav. Immun.* 2006. Vol. 20, № 5. P. 449–455.
- 269 Viviani B., Gardoni F., Marinovich M. Cytokines and Neuronal Ion Channels in Health and Disease // *Int. Rev. Neurobiol.* 2007. Vol. 82, № 07. P. 247–263.
- 270 Walker A.K. et al. Neonatal lipopolysaccharide and adult stress exposure predisposes rats to anxiety-like behaviour and blunted corticosterone responses: Implications for the double-hit hypothesis // *Psychoneuroendocrinology.* 2009. Vol. 34, № 10. P. 1515–1525.
- 271 Walker A.K. et al. Neonatal lipopolysaccharide exposure impairs sexual development and reproductive success in the Wistar rat // *Brain. Behav. Immun. Elsevier Inc.*, 2011. Vol. 25, № 4. P. 674–684.
- 272 Walker A.K. et al. Transgenerational transmission of anxiety induced by neonatal exposure to lipopolysaccharide: Implications for male and female germ lines // *Psychoneuroendocrinology.*

2012. Vol. 37, № 8. P. 1320–1335.
- 273 Walker A.K., Nakamura T., Hodgson D.M. Hippocampal IL-1 β but not TNF- α or IL-6 is upregulated following neonatal LPS and adult stress exposure // *Brain. Behav. Immun.* Elsevier Inc., 2010. Vol. 24, № 2010. P. S50.
- 274 Walker A.K., Nakamura T., Hodgson D.M. Neonatal lipopolysaccharide exposure alters central cytokine responses to stress in adulthood in Wistar rats // *Stress*. 2010. Vol. 13, № 6. P. 506–515.
- 275 Walker F.R. et al. A profile of the immediate endocrine, metabolic and behavioural responses following a dual exposure to endotoxin in early life // *Physiol. Behav.* 2004. Vol. 83, № 3. P. 495–504.
- 276 Walker F.R. et al. Early life host-bacteria relations and development: Long-term individual differences in neuroimmune function following neonatal endotoxin challenge // *Physiol. Behav.* 2006. Vol. 87, № 1. P. 126–134.
- 277 Walker F.R. et al. Individual differences in glucose homeostasis: Do our early life interactions with bacteria matter? // *Brain. Behav. Immun.* 2006. Vol. 20, № 4. P. 401–409.
- 278 Walker F.R., Knott B., Hodgson D.M. Neonatal endotoxin exposure modifies the acoustic startle response and circulating levels of corticosterone in the adult rat but only following acute stress // *J. Psychiatr. Res.* 2008. Vol. 42, № 13. P. 1094–1103.
- 279 Walker F.R., March J., Hodgson D.M. Endotoxin exposure in early life alters the development of anxiety-like behaviour in the Fischer 344 rat // *Behav. Brain Res.* 2004. Vol. 154, № 1. P. 63–69.
- 280 Wang K.C. et al. Neonatal lipopolysaccharide exposure induces long-lasting learning impairment, less anxiety-like response and hippocampal injury in adult rats // *Neuroscience*. 2013. Vol. 234. P. 146–157.
- 281 Warden M.R. et al. A prefrontal cortex-brainstem neuronal projection that controls response to behavioural challenge // *Nature*. Nature Publishing Group, 2012. Vol. 492, № 7429. P. 428–432.
- 282 Watanabe Y. et al. Distinct localization of prostaglandin D2, E2, and F2a binding sites in monkey brain. // *Brain Res.* 1989. Vol. 478. P. 143–148.
- 283 Watanabe Y., Gould E., McEwen B.S. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons // *Brain Res.* 1992. Vol. 588, № 2. P. 341–345.
- 284 Watanabe Y., Watanabe Y., Hayaishi O. Quantitative autoradiographic localization of prostaglandin E2 binding sites in monkey diencephalon // *J. Neurosci.* 1988. Vol. 8, № 6. P. 2003–2010.
- 285 Watkins L.R. et al. Neurocircuitry of illness-induced hyperalgesia // *Brain Res.* 1994. Vol. 639, № 2. P. 283–299.
- 286 Watson S., Mackin P. HPA axis function in mood disorders // *Psychiatry*. 2006. Vol. 5, № 5. P. 166–170.
- 287 Webster Marketon J.I., Glaser R. Stress hormones and immune function // *Cell. Immunol.* 2007. Vol. 252, № 1–2. P. 16–26.
- 288 Weissman M.M. et al. Offspring of depressed parents // *Arch Gen Psychiatry*. 1997. Vol. 54. P. 932–940.
- 289 Weissman M.M. et al. Offspring of depressed parents 10 years later // *Arch Gen Psychiatry*. 1997. Vol. 54. P. 932–940.
- 290 Wigger A., Neumann I.D. Periodic maternal deprivation induces gender-dependent alterations in behavioral and neuroendocrine responses to emotional stress in adult rats // *Physiol. Behav.* 1999. Vol. 66, № 2. P. 293–302.
- 291 Willner P. Animal models of depression: an overview. // *Pharmacol. Ther.* 1990. Vol. 45, № 3. P. 425–455.
- 292 Willner P. et al. Changes in mesolimbic dopamine may explain stress-induced anhedonia //

- Psychobiology. 1991. Vol. 19, № 1. P. 79–84.
- 293 Willner P. et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant // *Psychopharmacology (Berl)*. 1987. Vol. 93, № 3. P. 358–364.
- 294 Willner P. The validity of animal models of depression // *Psychopharmacology (Berl)*. 1984. Vol. 83, № 1. P. 1–16.
- 295 Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation // *Psychopharmacology (Berl)*. 1997. Vol. 134, № 4. P. 319–329.
- 296 Wolfe L.S. Leukotrienes , and Other Derivatives of Carbon-20 Unsaturated Fatty Acids // *J. Neurochem.* 1982. P. 1–14.
- 297 Yacoubi M. El, Vaugeois J. Genetic rodent models of depression // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2007. Vol. 7. P. 3–7.
- 298 Yamashita T., Tucker K.L., Barde Y. Neurotrophin binding to the p75 receptor modulates Rho activity and axonal outgrowth // *Neuron*. 1999. Vol. 24. P. 585–593.
- 299 Young E.A. et al. Hormonal Evidence for Altered Responsiveness to Social Stress in Major Depression // *Neuropsychopharmacology*. 2000. Vol. 23, № 4. P. 411–418.
- 300 Zavitsanou K. et al. Neonatal lipopolysaccharide treatment has long-term effects on monoaminergic and cannabinoid receptors in the rat // *Synapse*. 2013. Vol. 67, № 6. P. 290–299.
- 301 Zhe D., Fang H., Yuxiu S. Expressions of hippocampal mineralocorticoid receptor (MR) and glucocorticoid receptor (GR) in the single-prolonged stress-rets // *Acta Histochem. Cytochem.* 2008. Vol. 41, № 4. P. 89–95.
- 302 Ziegler M.G. Psychological Stress and the Autonomic Nervous System // *Primer on the Autonomic Nervous System*. Third Edit. Elsevier Inc., 2012. 291–293 p.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Рисунок 1. Схема вовлечения стресс-реализующих систем организма. Цепочка передачи стрессорного ответа в ГГНС следующая: кортикотропин-рилизинг фактор (CRF) активирует секреторное паравентрикулярное ядро (PVN) гипоталамуса, которое также иннервируется другими частями лимбической системы (амигдалой, ядрами среднего мозга). В гипоталамусе CRF активирует переднюю долю гипофиза, что вызывает увеличение секреции АКТГ. Под воздействием АКТГ в корковом веществе надпочечников возрастает секреция кортикостероидов, действующих на клетки-мишени через кортикоидные рецепторы. В стрессорном ответе также участвует вазопрессин, он может влиять на работу ГГНС, вовлечен в патогенез депрессивных нарушений (Scott and Dinan, 1998). Активация САС приводит к высвобождению катехоламинов адреналина и норадреналина из мозгового вещества надпочечников, действующих на клетки-мишени через адренорецепторы..... 9

Рисунок 2. Схема поведенческих тестов с животными для выявления депрессивно-подобного поведения, индуцированного ХНС..... 40

Рисунок 3. Схема манипуляций для формирования и проверки тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс. 42

Рисунок 4. Время пассивного плавания крыс в тесте "вынужденное плавание" до и после хронического непредсказуемого стресса (ХНС). * - различие между тестами до и после ХНС для одних и тех же животных, $p=0,04$, t-тест для зависимых переменных. $N=52$ 52

Рисунок 5. Потребление раствора сахарозы в процентах от общего потребления жидкости. Тест "1 час" проводили в конце 7-ой недели ХНС, тест "48 часов" – в конце 8-ой недели ХНС. * - различие между тестами до и после ХНС для одних и тех же животных, $p=0,0005$, t-тест для зависимых переменных. \bullet – различие между группой контроля и животными после ХНС, $p<0.0001$, U-критерий Манна-Уитни. $N=52$ 53

Рисунок 6. Тест «открытое поле». Сравнение показателей теста у животных после НПС и контрольной группы в возрасте 3 месяца. Данные представлены в процентах от среднего уровня контрольной группы. * отличие экспериментальной группы от контрольной одного возраста, $p<0,05$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=21$ (контроль - 9, НПС – 12)..... 55

Рисунок 7. Тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Сравнение показателей теста у животных после НПС и контрольной группы в возрасте 3 месяца. Данные представлены в процентах от среднего уровня контрольной группы. * отличие экспериментальной группы от контрольной одного возраста, $p < 0,05$ по U-критерию Манна-Уитни. N=21 (контроль - 9, НПС – 12)..... 56

Рисунок 8. Тест «выработка условно-рефлекторного замирания». Тестирование выработки рефлекса условного замирания в знакомом контексте на следующий день после обучения. Данные представлены в процентах от времени замирания контрольной группы. * отличие экспериментальной группы от контрольной, $p = 0,04$ по U-критерию Манна-Уитни. N=21 (контроль - 9, НПС – 12)..... 57

Рисунок 9. Тест на предпочтение раствора сахарозы. Потребление раствора сахарозы в процентах от общего потребления жидкости. * отличие экспериментальной группы от контрольной, $p = 0,04$ по U-критерию Манна-Уитни. N=21 (контроль - 9, НПС – 12)..... 58

Рисунок 10. Тест «вынужденное плавание» в группах крыс в возрасте 3 мес. А – данные по первому дню теста, время пассивного плавания дано для первых 5 минут; Б – данные по второму дню теста. ЛП – латентный период до первого эпизода зависания в воде. *, # отличие экспериментальной группы от контрольной одного возраста, где * $p = 0,03$, # $p = 0,05$ по U-критерию Манна-Уитни. N=21 (контроль - 9, НПС – 12). 60

Рисунок 11 Содержание кортикостерона в плазме крови ювенильных крыс после НПС. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль» и «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс» и «НПС+стресс»). * отличие животных после НПС от контрольных, $p = 0,005$ по U-критерию Манна-Уитни. о различия по уровню показателя между группой без стрессогенных тестов и группой, прошедших тестирование поведения. $p = 0,02$ по t-тесту для зависимых переменных. N=42 («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12)..... 62

Рисунок 12. Содержание кортикостерона в сыворотке крови и структурах мозга крыс в возрасте 3 месяца после НПС. #, * отличие животных после НПС от контрольных, # $p = 0,08$, * $p = 0,001$ по U-критерию Манна-Уитни. 63

Рисунок 13. Содержание кортикостерона в сыворотке крови взрослых крыс после НПС. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль» и «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс» и «НПС+стресс»). # отличие животных после НПС от контрольных, $p = 0,08$ по U-критерию

Манна-Уитни. **o** различия по уровню показателя между соответствующей группой без стрессогенных тестов и группой после них. $p=0,005$, U-критерий Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12)..... 64

Рисунок 14. Содержание кортикостерона в структурах мозга взрослых крыс после НПС после субхронического стресса. **А** – во всех исследованных структурах мозга в процентном отношении к среднему уровню кортикостерона в соответствующих группах без поведенческого стресса. Пунктирной линией обозначен уровень показателя в подгруппах без субхронического стресса. **Б** – в коре БП; **В** – во фронтальной коре (ФК); **Г** – в гиппокампе. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль» и «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс» и «НПС+стресс»). **o** - различия по уровню показателя между группой без стрессогенных тестов и группой, прошедших тестирование поведения, $p=0,001$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12)..... 65

Рисунок 15. Содержание BDNF в сыворотке крови взрослых крыс после НПС. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование (группы «контроль+стресс», «НПС+стресс»). * отличие экспериментальной группы от контрольной, $p=0,01$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=42$ («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12)..... 67

Рисунок 16. Содержание BDNF в структурах мозга взрослых крыс после НПС в подгруппах животных, не участвовавших в тестировании поведения.* отличие экспериментальной группы от контрольной, $p=0,01$ по U-критерию Манна-Уитни. $N=21$ (контроль – 8, НПС – 13)..... 68

Рисунок 17. Содержание NGF в структурах мозга взрослых крыс после НПС в подгруппах животных, не участвовавших в тестировании поведения. $N=21$ (контроль – 8, НПС – 13)..... 68

Рисунок 18. Содержание BDNF в структурах мозга взрослых крыс после НПС. **А** – во всех исследованных структурах мозга в процентном отношении к среднему уровню кортикостерона в соответствующих группах без поведенческого стресса. Пунктирной линией обозначен уровень показателя в подгруппах без субхронического стресса. **Б** – в коре БП; **В** – во фронтальной коре (ФК); **Г** – в гиппокампе. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения (группы «контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших

тестирование (группы «контроль+стресс», «НПС+стресс»). **o**, **x** - различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без стрессогенных тестов и подгруппой после них, **o** - $p < 0,03$, **x** - $p = 0,07$ по U-критерию Манна-Уитни. N=42 («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12). 69

Рисунок 19. Содержание NGF в структурах мозга взрослых крыс после НПС. **A** – во всех исследованных структурах мозга в процентном отношении к среднему уровню кортикостерона в соответствующих группах без поведенческого стресса. Пунктирной линией обозначен уровень показателя в подгруппах без субхронического стресса. **B** – в коре БП; **B** – во фронтальной коре (ФК); **Г** – в гиппокампе. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения («контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование («контроль+стресс», «НПС+стресс»). **o** - различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без стрессогенных тестов и подгруппой после них, $p = 0,001$ по U-критерию Манна-Уитни. N=42 («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12). 70

Рисунок 20. Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у крыс в исходном состоянии и после субхронического стресса. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения («контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование («контроль+стресс», «НПС+стресс»). **o**, **x** - различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без тестирования поведения и подгруппой после тестирования. **o** $p < 0,05$, **x** $p < 0,1$ по U-критерию Манна-Уитни. N=42 («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12). 72

Рисунок 21. Содержание противовоспалительных и иммуномодуляторных цитокинов в сыворотке крови у крыс в исходном состоянии и после субхронического стресса. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения («контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование («контроль+стресс», «НПС+стресс»). **o**, **x** - различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без стрессогенных тестов и подгруппой после них. **o** $p < 0,05$, **x** $p < 0,1$ по U-критерию Манна-Уитни. N=42 («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12). 73

Рисунок 22. Уровень провоспалительных цитокинов по содержанию белка ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α и экспрессии мРНК в структурах мозга крыс в исходном состоянии и после субхронического стресса. Светлым цветом в обеих группах обозначены подгруппы животных, не проходивших тестирование поведения («контроль», «НПС»), более темным цветом в обеих

группах обозначены подгруппы животных, перенесших тестирование («контроль+стресс», «НПС+стресс»). **o** различия по уровню показателя между соответствующей подгруппой без стрессогенных тестов и подгруппой после них, $p < 0,05$ по U-критерию Манна-Уитни. N=42 («контроль» - 8, «контроль+стресс» - 9, «НПС» - 13, «НПС+стресс» - 12)..... 75

Рисунок 23. Содержание ФНО α в плазме крови крыс после НПС в возрасте 1 мес. Светлым цветом обозначены показатели крови животных до тестирования поведения, более темным цветом – после тестирования. **o** - внутригрупповые различия между уровнем показателя до стрессогенных тестов и после них. **o** $p < 0,05$, по t-критерию Вилкоксона для зависимых переменных. N=19 («контроль» - 10, «НПС» - 9). 75

Рисунок 24. Изменение показателей в сыворотке крови через час после умеренного психо-эмоционального стресса. Нулевое значение на оси ординат соответствует дострессорному уровню каждого показателя. Изменение показателя посчитано отдельно для каждого испытуемого, на рисунке представлены средние значения изменений по группам. **o** – отличие постстрессорного уровня показателя от уровня до стресса, – $p < 0,05$ по t-тесту Стьюдента для зависимых переменных (распределение значений нормальное). N=118 (контроль – 44, ТДС – 74)..... 79

Рисунок 25. Содержание глюкозы в сыворотке крови в исходном состоянии и через час после умеренного психо-эмоционального стрессорного воздействия. Средние значения обозначены красными линиями поперек каждого бокса. **o** – отличие уровня показателя через час после теста от уровня до теста, – $p < 0,0001$ по t-тесту Стьюдента для зависимых переменных. N=117 (контроль – 44, ТДС – 73)..... 80

Рисунок 26. Содержание кортизола и АКТГ в сыворотке крови. * - отличие группы пациентов с ТДС от группы контроля, $p < 0,05$ по t-тесту Стьюдента для независимых переменных. N=118 для кортизола, 67 - для АКТГ. 81

Рисунок 27. Содержание BDNF в исходном состоянии в сыворотке крови здоровых испытуемых и пациентов с ТДС. N=113..... 81

Рисунок 28. Содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α в сыворотке крови здоровых испытуемых и пациентов с ТДС в исходном состоянии. * - отличие группы пациентов с ТДС от группы контроля. $p < 0,05$ по t-тесту для независимых переменных. N= 96 для ИЛ-1 β , 114 – для ИЛ-6, 68 - для ФНО α 82

Рисунок 29. Изменение показателей крови через 1 час после умеренного психо-эмоционального стрессорного воздействия. **o**, **x** - отличие постстрессорного от уровня до стресса, **o** – $p = 0,03$, **x** – $p < 0,1$ по t-тесту Стьюдента для зависимых переменных. 83

Рисунок 30. Реакция «образцовых испытуемых» на психо-эмоциональный стресс по уровню кортизола..... 84

Таблица 1 - Список экспериментальных групп при моделировании и проверке тревожного и депрессивно-подобного поведения у крыс 41

Таблица 2 - Характеристики выборки для клинической части эксперимента 45

Таблица 3 - Параметры множественной логистической регрессионной модели, построенной для категориального признака наличие тревожно-депрессивной симптоматики у испытуемого по следующим показателям: кортизол, АКТГ, ФНО α , ИЛ-6 в сыворотке крови в исходном состоянии; а также изменение содержания ИЛ-6 и глюкозы через час после умеренного психо-эмоционального стресса..... 84

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ АВТОРА, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Стрессогенные эффекты однократной инъекции физиологического раствора: системные (кровь) и центральные (фронтальная кора, дорсальный и вентральный гиппокамп) /**Фрейман С.В.**, Онуфриев М.В., Степаничев М.Ю., Моисеева Ю.В., Лазарева Н.А., Гуляева Н.В. // Нейрохимия. -2016. - Vol. 33, № 2. -P. 122–127.

Neonatal pro-inflammatory challenge in male Wistar rats: Effects on behavior, synaptic plasticity, and adrenocortical stress response /Tishkina A., Stepanichev M., Kudryashova I., **Freiman S.**, Onufriev M., Lazareva N., Gulyaeva N. // Behav. Brain Res. Elsevier B.V. - 2016. - Vol. 304. - P. 1–10.

Anhedonia but not passive floating is an indicator of depressive-like behavior in two chronic stress paradigms /Stepanichev M., Tishkina A., Novikova M., Levshina I., **Freiman S.**, Onufriev M., Levchenko O., Lazareva N., Gulyaeva N. // Acta Neurobiol. Exp. (Wars). - 2016. - Vol. 76, № 4. - P. 324–333.

Neonatal proinflammatory stress induces accumulation of corticosterone and Interleukin-6 in the hippocampus of juvenile rats: potential mechanism of synaptic plasticity impairments /Onufriev M.V., **Freiman S.V.**, Peregud D.I., Kudryashova I.V., Tishkina A.O., Stepanichev M.Yu., Gulyaeva N.V. // Biochemistry (Moscow) – 2017. – Vol. 82 - No. 3. - P. 275-281.

Specific activity features in the forced swim test: brain neurotrophins and development of stress-induced depressive-like behavior in rats /Stepanichev M., Manolova A., Peregud D., Onufriev M., **Freiman S.**, Aniol V., Novikova M., Moiseeva Y., Lazareva N., Gulyaeva N. // Neuroscience. IBRO. - 2018. -Vol. 375. - P. 49–61.

Фрейман С. Повышенная чувствительность к стрессу при тревожно-депрессивных патологиях у пациентов: аналогии с крысами, демонстрирующими депрессивно-подобное поведение// XVIII школа-конференция молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва. – 2014 – С. 27.

Фрейман С. Исследование механизмов влияния раннего постнатального стресса на динамику формирования депрессивно-подобного поведения у крыс// Материалы XIX школы-конференции молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва. – 2014 – С. 14.

Приложение А. Форма информированного согласия пациента на участие в исследовании.

Код участника: _____

Название исследования: «Изучение стресс-реактивности у людей с тревожно-депрессивной симптоматикой»

Место выполнения исследования: ГБУЗ «Научно-практический центр психоневрологии им. З.П. Соловьёва ДЗМ» (г. Москва, ул. Донская 43)

Глубокоуважаемый/ая _____

Вам предлагается принять участие в клиническом исследовании, Ваше согласие на участие в исследовании является полностью добровольным. После того, как Вы дали согласие, Вы имеете право в будущем в любой момент прекратить дальнейшее участие. Ваше решение о прекращении участия или отказ от исследования не повлияют на объем и качество получаемой Вами медицинской помощи. В ходе исследования Вам будет предложено пройти стресс-тест в виде умеренной эмоционально-когнитивной нагрузки с забором венозной крови до и через час после выполнения стресс-теста. Также будет проведено комплексное психологическое обследование, клинический и расширенный биохимический анализ крови, определение содержания нейротрофических факторов, провоспалительных цитокинов и гормонов.

Подписывая данный документ, я добровольно даю свое согласие участвовать в исследовании. Я подтверждаю, что одна из копий данной формы согласия будет передана мне. Моя подпись, поставленная ниже, выражает мою готовность участвовать в исследовании.

Дата: _____

ФИО пациента _____

Подпись пациента _____

ФИО врача-исследователя _____

Подпись врача-исследователя _____