

УДК 612.81+615.214.32:615.272.3
DOI: 10.26435/UC.V013(40).677

Т.О. Зайка, Ю.В. Кузнецов, Д.В. Евдокимов, Ю.В. Сидорова, И.И. Абрамец

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СВЯЗИ МЕЖДУ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ И АНТИДЕПРЕССИВНЫМ ДЕЙСТВИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ

В прижизненных исследованиях мозга больных депрессией с помощью магнитно-резонансной спектроскопии выявлено уменьшение объема префронтальной коры и гиппокампа, которое сопровождается ослаблением нисходящего контроля активности прилежащего ядра, миндалевидного комплекса, латеральной уздечки – структур, формирующих страх, тревогу, настроение [1]. В доклинических исследованиях на животных с поведенческой депрессией, вызванной воздействием хронического стресса, выявлено уменьшение объема пирамидных нейронов медиальной префронтальной коры, уменьшение размера дендритов, снижение количества и угнетение функций глутаматергических синапсов; аналогичные изменения обнаружены в области СА3 гиппокампа [2]. Эти исследования на людях и грызунах демонстрируют, что депрессию можно рассматривать как умеренную нейродегенеративную болезнь и лечение должно быть направлено на восстановление функций нейронных ансамблей, нарушенных атрофическими процессами [3].

В результате исследований, проведенных в нашей лаборатории ранее, было установлено, что относящиеся к разным функциональным классам антидепрессанты, помимо влияния на обмен моноаминов в мозге, обладают церебропротективной активностью, которая проявлялась тем, что в условиях хронического введения антидепрессанты ослабляли повреждения пирамидных нейронов области СА1 дорсального гиппокампа крыс, вызываемые эксайтотоксическим действием N-метил-D-аспартата (НМДА) и процедурой аноксии/агликемии [4, 5]. С другой стороны, в ходе дальнейших исследований было установлено, что хроническое введение ноотропного средства пирацетама и обладающего церебропротективной активностью фармакологического вещества диакамафа уменьшало время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания и увеличивало показатель предпочте-

ния потребления сладкого раствора по сравнению с водой при моделировании поведенческой депрессии, т. е. обнаруживало антидепрессантоподобное действие [6].

Тем не менее можно думать, что отдельные препараты и антидепрессанты, и церебропротекторов обладают индивидуальным спектром церебропротективной активности и особенности этого спектра могут определять разные проявления антидепрессивной активности. Это предположение и определяет цель настоящего исследования.

Цель работы заключается в том, чтобы, сопоставив спектры церебропротективной активности исследуемых веществ и их поведенческие антидепрессивные эффекты, определить, существует ли данный вид церебропротективной активности в проявлениях антидепрессивного действия веществ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на белых инбредных крысах массой 200–250 г (n=114). Животные были получены из Питомника лабораторных животных республиканской СЭС. Крыс содержали в условиях вивария (температура – 20–24°C, относительная влажность – 50–70%, 12-часовой световой цикл) по 5–6 особей в пластиковых клетках со свободным доступом к пище и воде.

Соответствие принципам этики. Проведенные исследования соответствуют стандартам и требованиям «Принципов надлежащей лабораторной практики», с соблюдением European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Others Scientific Purposes, CETS № 170, одобрены комиссией по биоэтике Государственной образовательной организации высшего профессионального образо-

вания «Донецкий национальный медицинский университет им М. Горького» (пр. Ильича, д. 16, г. Донецк), протокол № 43/16 от 15.11.2016 г.

Реактивы: диакамф – (\pm)-цис-3-(2'-бензимидазол)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты гидрохлорид, соединения Р-86 – 5'-(4-метилфенил)-3'-[2-(метилтио)этил]-3а',6а'-дигидро-2'Н-спиро[индол-3,1'-пироло[3,4-с]пирол]-2,4',6'(1Н,3'Н,5'Н)-трион – 10 мг/кг в/б (оба препарата синтезированы в Харьковском НФУ); пирацетам – 100 мг/кг в/б (НИКО, Украина), имипрамин – 20 мг/кг в/б (EGYS, Венгрия), амитриптилин – 20 мг/кг в/б (Zentiva a. s., Чешская Республика) – все препараты вводили 20 дней; кетамин – 5 мг/кг в/б (Биолек, Украина) вводили за 1 час до исследований. N-метил-D-аспартат – 50 мкМ (Tocris Cookson, Великобритания), глицин – 1 мкМ (Олайнфарма, Литва), водорода перекись – 1 мМ (Здоровье, Украина).

Исследование церебропротективной активности веществ на срезах гиппокампа

Церебропротективную активность диакамфа, соединения Р-86, референтного препарата пирацетама, трициклических антидепрессантов имипрамина и амитриптилина, а также быстродействующего антидепрессанта кетамин в субнестетической дозе исследовали *in vitro* на срезах дорсального гиппокампа крыс. Детали метода описаны ранее [7]. Опытным животным вводили внутрибрюшинно (в/б) на протяжении 10 дней исследуемые вещества, кроме кетамина; последний вводили в/б за 1 час до электрофизиологических исследований. Контрольным крысам в/б вводили растворитель – 0,9% раствор NaCl – в эквивалентном объеме в течение 10 дней. На следующий день после последней инъекции животных наркотизировали кетамином в дозе 50 мг/кг, декапитировали и из черепа выделяли головной мозг, который тотчас охлаждали в предварительно насыщенном карбогеном растворе Кребса при температуре 4-6°C. Далее из заднего полюса мозга с помощью вибратора готовили срезы дорсального гиппокампа толщиной 400 мкм. Срезы переносили в инкубационную камеру, где они перфузировались стандартным раствором Кребса, постоянно аэрируемым карбогеном при температуре 25°C в течение не менее 1,5 часов. Затем каждый отдельный срез переносили из инкубационной в рабочую камеру объемом 0,5 мл, в которой их перфузировали тем же раствором со скоростью 2 мл/мин при температуре 29°C. С помощью заполненных 2 М раствором NaCl стеклянных микроэлектродов с сопротивлением кончика 2-5 МОм внеклеточно регистрировали электрическую активность пирамидных нейронов области CA1 дорсального

гиппокампа. Синаптические потенциалы – популяционные возбуждающие постсинаптические потенциалы (пВПСП) вызывали при помощи нихромового биполярного электрода, который располагали над коллатеральными Шаффера, прямоугольными импульсами тока продолжительностью 0,1 мс, частотой 1 в 20 с. Синаптические потенциалы усиливали по переменному току, оцифровывали и сохраняли на жестком диске персонального компьютера.

Одна из основных функций нейронов – генерация потенциалов действия и синаптических потенциалов. Если данное воздействие вызывает необратимое снижение амплитуд синаптических потенциалов, мы оцениваем этот эффект как проявление повреждения нейронов. С другой стороны, если на фоне хронического введения крысам фармакологического вещества степень уменьшения амплитуды от того же воздействия (повреждение нейронов) достоверно уменьшается, мы можем думать, что вещество обладает церебропротективным действием. В качестве повреждающих пирамидные нейроны гиппокампа мы использовали следующие процедуры: аноксию/агликемию (депривация кислорода и глюкозы), воздействие перекиси водорода (оксидативный стресс) и эксайтотоксическое действие N-метил-D-аспартата (НМДА).

Аноксию и агликемию моделировали по методу Tian G., Baker A.J. [8]: срезы помещали в камеру с атмосферой азота в раствор Кребса, где глюкоза была замещена эквивалентным количеством маннита на 7,5 мин при температуре 32°C. Затем срезы переносили в инкубационную камеру в аэрируемый стандартный раствор Кребса. В электрофизиологические исследования срезы брали через 1 час после прекращения процедуры аноксии/агликемии. Оксидативный стресс моделировали по методу de Almeida L.M. et al. [9], для чего на срезы воздействовали H₂O₂ в концентрации 1 мМ в течение 30 мин. После этого срезы переносили в инкубационную камеру и через 1 час брали в исследования. Эксайтотоксическое действие НМДА исследовали по методу, предложенному Liu Y. et al. [10]. Для этого на срезы гиппокампа воздействовали 50 мкМ НМДА в присутствии 1 мкМ глицина в течение 15 мин. После этого срезы переносили в инкубационную камеру, где они пребывали не менее 1 часа. В электрофизиологические исследования срезы брались через 1 час после прекращения действия НМДА.

Исследования влияния веществ на поведение крыс при моделировании депрессивно-подобного фенотипа

Для изучения влияния исследуемых веществ на важнейшие проявления депрессивного фе-

нотипа поведения – увеличение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания и увеличение показателя потребления раствора сахарозы по сравнению с водой – экспериментальный депрессивный синдром моделировали по методу Sun P. et al [11]. Для этого крыс ежедневно на протяжении пяти дней подвергали воздействию неизбежного стресса, помещая животных в воду на протяжении 10 мин после предварительного определения исходных показателей поведения – времени иммобилизации и показателя потребления сладкого раствора. Через 20 суток после последнего сеанса плавания определяли изменения этих показателей поведения. В течение этого промежутка времени опытным крысам в/б вводили диакамф и соединение Р-86 в дозе 10 мг/кг, пираретам в дозе 100 мг/кг, антидепрессанты имипрамин и амитриптилин в дозе 20 мг/кг; кетамин в дозе 5 мг/кг вводили за 1 час до поведенческих исследований на фоне 20-дневного введения растворителя. Контрольным крысам в/б вводили растворитель в дозе 1мл/кг.

Уровень депрессивности животных определяли по разработанной Porsolt R.D. et al. [12] общепринятой методике в тесте вынужденного плавания. Крыс помещали в аквариумы высотой 50 см, заполненные водой на 2/3 высоты, с температурой воды 22–25°C. Регистрировали наиболее информативный показатель теста – время иммобилизации крыс, которая проявлялась вертикальным положением крыс в воде, пассивным плаванием без движений конечностями, передние лапы были прижаты к груди, задние вытя-

нуты. Регистрировали продолжительность иммобилизации в течение последних 180 секунд (с) сеанса вынужденного плавания продолжительностью 300 с.

Характеризующий гедоническое поведение крыс тест предпочтения потребления раствора сахарозы, отражающий оценку пищевого вознаграждения, реализовали по методу Benelli A. et al. [13]. Для этого в первые сутки крыс помещали в индивидуальные клетки с двумя поилками, заполненными 1-процентным раствором сахарозы. Следующие сутки в одной поилке была вода, а в другой – раствор сахарозы. В течение 23 часов третьих суток животных подвергали пищевой и водной депривации, а затем на 60 мин в клетку возвращали предварительно взвешенные 2 поилки, заполненные водой и раствором сахарозы. По истечении часа поилки взвешивали. В последующие 2 часа четвертых суток животные получали пищу и воду, после чего на 21 час их лишали пищи и воды. Затем опять на 1 час возвращали поилки и определяли показатель (%) предпочтения потребления раствора сахарозы.

Статистическая обработка результатов.

Результаты исследований обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с помощью лицензионной программы «Medstat». В работе использовались параметрические и непараметрические методы, с учетом предварительной проверки выборок на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Для выявления различий между выборками применяли t-критерий Стьюдента для парных сравнений и с поправкой Бонферрони – для множественных сравнений. Статистически достоверными различия считали при значимости $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

А. Определение спектров церебропротективной активности исследуемых веществ

Примеры церебропротективной активности некоторых изучаемых веществ, полученные в исследованиях на отдельных срезах гиппокампа, взятых от крыс, которым на протяжении 10 дней внутривенно вводили растворитель или исследуемые вещества диакамф и соединение Р-86 в дозах 10 мг/кг и пираретам в дозе 100 мг/кг, представлены на рисунке 1.

Воздействие на срезы гиппокампа повреждающих процедур вызывало снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов (А – В, 2). В то же время воздействие на срезы гиппокампа повреждающих процедур угнетало синаптические потенциалы в меньшей степени у крыс, которым вводили диакамф, соединение Р-86 и пи-

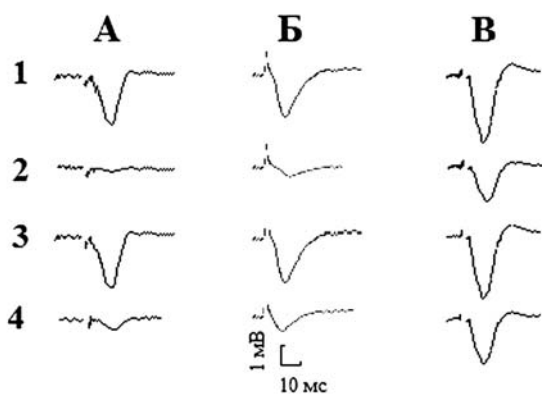


Рис. 1. Влияния аноксии/агликемии (А), оксидативного стресса (Б) и эксайтотоксического действия N-метил-D-аспартата на амплитуду пВПСП пирамидных нейронов области СА1 гиппокампа у крыс, которым вводили растворитель (1 – контроль, 2 – действие повреждающей процедуры) и изменения этих влияний у крыс, которым 10 дней вводили диакамф (А, 3 – контроль, 4 – действие повреждающей процедуры), соединение Р-86 (Б, 3, 4) и пираретам (В, 3, 4).

рацетам (рис. 1; А – В, 4). Ослабление повреждающего действия исследуемых процедур на синаптическую передачу в гиппокампе изучаемыми веществами мы оценивали как проявление их церебропротективной активности.

На рисунке 2 представлены спектры церебропротективной активности исследуемых веществ по их способности ослаблять нарушения синаптической передачи в области СА гиппокампа, вызываемые аноксией/агликемией, оксидативным стрессом и эксайтотоксическим действием. Так, после воздействия на срезы гиппокампа процедуры аноксии/агликемии амплитуда субмаксимальных пВПСП пирамидных нейронов уменьшалась почти до 10% от исходной (рис. 2.).

Вещества с выявленной разработчиками в исследованиях *in vivo* церебропротективной активностью – диакамф, соединение Р-86 и референтный препарат пиррацетам уменьшали повреждение пирамидных нейронов аноксией/агликемией. Действительно, на фоне хронического введения крысам диакамфа аноксия/агликемия уменьшала амплитуду пВПСП пирамидных нейронов до $0,74 \pm 0,16$ мВ против $0,24 \pm 0,07$ мВ ($P < 0,05$) у крыс, которым вводили растворитель (рис. 2.). При хроническом введении соединения Р-86 и пиррацетама снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов достигало величин $0,85 \pm 0,06$ мВ и $0,58 \pm 0,13$ мВ против $0,34 \pm 0,06$ мВ и $0,27 \pm 0,05$ мВ у крыс, получавших растворитель, соответственно (рис. 2.). Таким образом, диакамф, соединение Р-86 и пиррацетам досто-

верно ($P < 0,05$) ослабляли вызываемое процедурой аноксии/агликемии повреждение пирамидных нейронов гиппокампа. В то же время антианоксическая активность также присуща хронически вводимым имипрамину и амитриптилину, о чем свидетельствует увеличение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов до $0,49 \pm 0,04$ мВ и $0,37 \pm 0,04$ мВ против $0,29 \pm 0,03$ мВ и $0,22 \pm 0,02$ мВ у контрольных крыс соответственно (рис. 2.). Кетамин достоверно ($P < 0,05$) увеличивал амплитуду пВПСП пирамидных нейронов при их аноксическом повреждении – $0,61 \pm 0,05$ мВ против $0,29 \pm 0,03$ мВ у контрольных крыс (рис. 2.). Таким образом, одним из проявлений церебропротективной активности исследуемых веществ является вызываемое их хроническим введением ослабление аноксических повреждений пирамидных нейронов гиппокампа.

Другим проявлением церебропротективной активности исследуемых веществ было ослабление оксидативных повреждений нейронов гиппокампа. Оксидативный стресс при воздействии на срезы гиппокампа 1 мМ H_2O_2 также вызывал жесткие повреждения пирамидных нейронов гиппокампа, на что указывает снижение амплитуд пВПСП до 20-35% по отношению к исходным (рис. 2.). Диакамф, соединение Р-86 и пиррацетам при хроническом введении ослабляли повреждения пирамидных нейронов, вызываемые оксидативным стрессом, судя по достоверному ($P < 0,05$) увеличению амплитуд пВПСП пирамидных нейронов до $1,56 \pm 0,23$ мВ, $1,46 \pm 0,22$ мВ и $1,44 \pm 0,21$ мВ против $0,52 \pm 0,11$ мВ, $0,55 \pm 0,12$

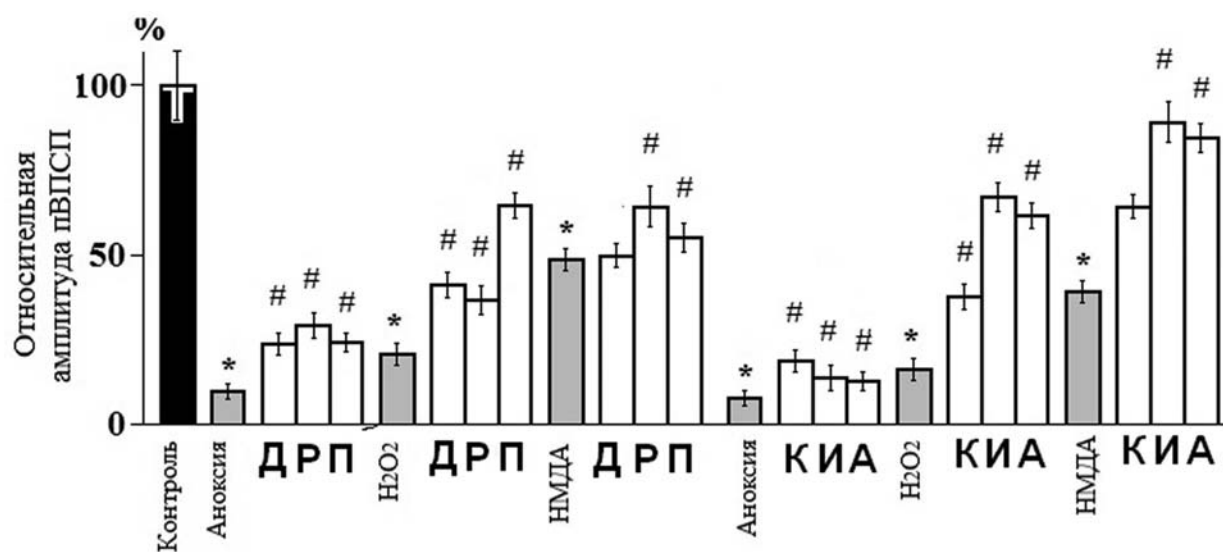


Рис. 2. Спектры церебропротективной активности диакамфа (Д), соединения Р-86 (Р), пиррацетама (П), кетамина (К), имипрамина (И) и амитриптилина (А), оцениваемые по способности веществ ослаблять повреждения пирамидных нейронов области СА1 дорсального гиппокампа, вызываемые аноксией/агликемией (Аноксия), оксидативным стрессом (H_2O_2) и эксайтотоксическим действием (НМДА). По вертикальной шкале – амплитуда пВПСП пирамидных нейронов в мВ. * и # – отличия от контроля и повреждающего воздействия соответственно достоверны при $P < 0,05$.

мВ и $0,48 \pm 0,10$ мВ у контрольных крыс соответственно (рис. 2.). Антидепрессанты имипрамин и amitриптилин также противодействовали повреждающему действию оксидативного стресса, увеличивая амплитуду синаптических потенциалов пирамидных нейронов до $2,24 \pm 0,22$ мВ и $1,93 \pm 0,18$ мВ против $0,56 \pm 0,06$ мВ и $0,53 \pm 0,05$ мВ у контрольных крыс соответственно ($P < 0,05$); на фоне кетамина амплитуда пВПСП после воздействия оксидативного стресса возрастала до $1,36 \pm 0,13$ мВ против $0,46 \pm 0,09$ мВ (рис. 2.).

Наконец, почти все исследуемые вещества ослабляли повреждения пирамидных нейронов гиппокампа, вызываемые глутаматной эксайтотоксичностью. Воздействие на срезы гиппокампа 50 мкМ НМДА в присутствии 1 мкМ глицина на протяжении 15 мин вызывало менее выраженные по сравнению с предыдущими процедурами повреждения пирамидных нейронов гиппокампа, судя по уменьшению амплитуд пВПСП ~ до 40-50% от исходной (рис. 2.). Диакамф не оказывал влияния на эксайтотоксическое действие НМДА $1,29 \pm 0,23$ мВ против $1,12 \pm 0,24$ мВ ($P = 0,62$), а соединение Р-86 и пирацетам достоверно ($P < 0,05$) ослабляло его, на что указывает увеличение амплитуд пВПСП до $2,07 \pm 0,16$ мВ и $1,59 \pm 0,11$ мВ против $1,48 \pm 0,11$ мВ и $1,08 \pm 0,07$ мВ у контрольных крыс соответственно (рис. 2.). Имипрамин, amitриптилин и кетамин достоверно ($P < 0,05$) увеличивали амплитуду пВПСП пирамидных нейронов до $2,81 \pm 0,31$ мВ, $2,62 \pm 0,24$ мВ и $2,12 \pm 0,18$ мВ против $1,33 \pm 0,13$ мВ, $1,24 \pm 0,12$ мВ и $1,61 \pm 0,13$ мВ у крыс, которым вводили растворитель, соответственно (рис. 2.).

Б. Определение влияния исследуемых веществ на поведенческую активность

При воздействии на крыс, но не на мышей, неизбежного плавательного стресса в гиппокампе формируется контекстуальная «память отчаяния» (despair memo) в форме длительной потенциации синаптической передачи [14]. При последующих стрессогенных воздействиях эта память переходит в кортикальные структуры, т.е. генерализуется, утрачивает связь с гиппокампом (контекстом), и в этих условиях даже эмоционально нейтральный стимул может вызвать воспроизведение хранящейся в памяти информации [15]. Таким образом, при воздействии хронического неизбежного стресса у крыс формируется депрессивно-подобный фенотип поведения. Действительно, через 20 дней после прекращения стрессогенного воздействия время иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания возрастало от $45,5 \pm 2,3$ до $87,6 \pm 6,3$ с, а показатель предпочтения потребления раствора сахарозы, напротив, уменьшался от $79,4 \pm 2,4$ до $66,6 \pm 2,1\%$ ($P < 0,05$). Эти изменения

поведения указывают на то, что после воздействия неизбежного плавательного стресса развивается депрессивно-подобный фенотип поведения, поскольку в этом случае наблюдаются два основных его проявления – беспомощность и ангедония из триады признаков (беспомощность, ангедония и тревожность), характеризующих этот тип поведения у грызунов [15].

Дополнительным подтверждением данного положения является то, что применяемые антидепрессанты ослабляли проявления поведенческой депрессии. Так, имипрамин и amitриптилин достоверно уменьшали возросший уровень иммобилизации крыс, указывающий на угнетение мотивации избавления от угрожающей ситуации, до $40,2 \pm 1,8$ с и $44,6 \pm 3,1$ с против $83,4 \pm 3,0$ с у крыс, которым вводили растворитель, а быстродействующий антидепрессант кетамин снижал этот показатель от $114,4 \pm 5,1$ с до $79,8 \pm 3,9$ с (рис. 3). В условиях хронического трехнедельного введения антидепрессанты вызывали достоверное ($P < 0,05$) увеличение показателя предпочтения потребления раствора са-

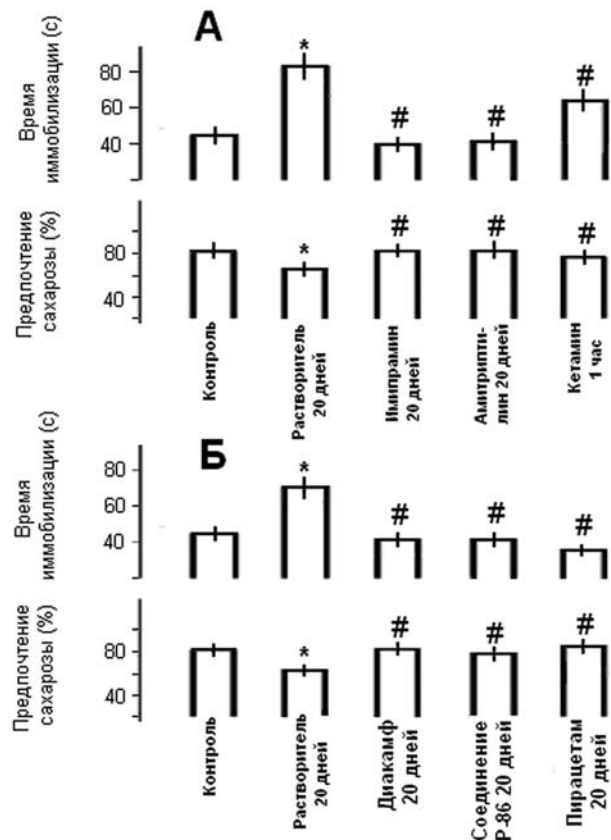


Рис. 3. Влияние исследуемых антидепрессантов (А) и препаратов церебропротекторов (Б) на основные проявления вызванной неизбежным плавательным стрессом поведенческой депрессии. * и # – отличия от контроля и повреждающего воздействия соответственно достоверны при $P < 0,05$.

харозы (уменьшение ангедонии) от $66,6 \pm 2,1$ с до $85,5 \pm 3,4$ с и $83,2 \pm 3,7$ с для имипрамина и амитриптилина соответственно (рис. 3.). Для кетамина эти величины изменялись от $54,0 \pm 1,8$ с до $66,1 \pm 2,1$ с (рис. 3.).

При однократном введении исследуемые антидепрессанты уменьшали время иммобилизации интактных крыс в тесте вынужденного плавания, и этот эффект был сильнее выражен при хроническом введении интактным животным. Действительно, при однократном введении имипрамина и амитриптилина в дозе 20 мг/кг время иммобилизации уменьшалось от $43,3 \pm 3,6$ с до $30,3 \pm 2,5$ с и от $59,6 \pm 3,9$ с до $42,4 \pm 3,3$ с соответственно, т.е. ~ на 30%. При хроническом трехнедельном введении интактным крысам этих же антидепрессантов время иммобилизации уменьшалось от $48,7 \pm 4,1$ с до $26,8 \pm 2,6$ с и от $52,3 \pm 3,9$ с до $29,3 \pm 2,7$ с, т.е. ~ на 44%. Диакамф ни при однократном, ни при хроническом введении крысам в дозе 10 мг/кг не изменял время иммобилизации животных в тесте вынужденного плавания. Действительно, до введения препарата время иммобилизации составляло $42,8 \pm 3,3$ с, а после однократного введения – $48,7 \pm 5,3$ с ($P=0,35$); до хронического введения – $45,7 \pm 3,5$ с, а после – $40,9 \pm 6,3$ с ($P=0,52$). Точно так же соединение Р-86 и пирацетам не оказывало влияния на время иммобилизации интактных крыс ни при однократном, ни при хроническом введении. Но эти препараты оказывают корректирующее влияние на нарушенные параметры поведения при депрессивно-подобном фенотипе поведения. Так, на фоне хронического введения церебропротекторов характеризующее угнетение мотивации избавления от угрожающей ситуа-

ции увеличенное время иммобилизации крыс при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии достоверно ($P<0,05$) снижалось при использовании диакамфа от $70,2 \pm 3,6$ с до $41,6 \pm 3,9$ с, соединение Р-86 – от $83,4 \pm 3,0$ с до $50,6 \pm 3,3$ с и пирацетама – от $87,6 \pm 6,3$ с до $33,6 \pm 3,6$ с (рис. 3.). Помимо этого, хроническое введение церебропротекторов также уменьшало ангедонию при депрессивно-подобном фенотипе поведения крыс. Действительно, эти вещества достоверно увеличивали показатель предпочтения потребления раствора сахарозы: диакамф – от $65,4 \pm 4,5\%$ до $84,5 \pm 4,2\%$, соединение Р-86 – от $66,6 \pm 2,1\%$ до $76,7 \pm 2,3\%$ и пирацетам – от $66,6 \pm 2,1\%$ до $85,7 \pm 5,6\%$ (рис. 3.). Эти данные указывают на то, что диакамф, соединение Р-86 и пирацетам в условиях хронического введения демонстрируют антидепрессанто-подобное действие при вызванной неизбежным хроническим плавательным стрессом поведенческой депрессии.

Для того чтобы выяснить, все или только отдельные аспекты церебропротективного действия исследуемых веществ определяют корректирующее влияние на проявления депрессивно-подобного фенотипа поведения, мы сопоставили полученную на срезах гиппокампа крыс церебропротективную активность и влияние на поведение крыс исследуемых веществ. Эта информация представлена в таблице 1.

Однако из-за обилия показателей связь между церебропротективными и поведенческими эффектами не является очевидной. Она становится более наглядной при анализе корреляционных связей между отдельными проявлениями церебропротективной активности и изме-

Таблица 1.

Относительная активность применяемых препаратов по их влиянию на исследуемые нейрофизиологические и поведенческие параметры при вызванной неизбежным плавательным стрессом поведенческой депрессии

Препараты	Степень ослабления в % исследуемыми веществами негативного влияния на пирамидные нейроны гиппокампа и поведение крыс				
	Глутаматной эксайто-токсичности	Оксидативного стресса	Аноксии/агликемии	Вызываемого стрессом угнетения мотиваций	Вызываемой стрессом ангедонии
Диакамф	0	$100,4 \pm 21,1$	$109,5 \pm 24,6$	$56,7 \pm 12,5$	$29,6 \pm 13,1$
Соединение Р-86	$40,3 \pm 9,1$	$87,6 \pm 13,3$	$139,2 \pm 16,3$	$65,4 \pm 16,2$	$24,5 \pm 13,3$
Пирацетам	$16,6 \pm 7,3$	$100,8 \pm 18,4$	$114,7 \pm 15,5$	$101,4 \pm 21,1$	$29,7 \pm 10,2$
Кетамин	$15,4 \pm 8,2$	$32,5 \pm 16,7$	$135,3 \pm 17,6$	$43,8 \pm 12,2$	$22,8 \pm 11,5$
Имипрамин	$133,5 \pm 18,6$	$311,4 \pm 28,4$	$76,2 \pm 13,5$	$186,5 \pm 25,3$	$31,4 \pm 12,1$
Амитриптилин	$122,4 \pm 19,3$	$283,7 \pm 25,2$	$70,6 \pm 14,5$	$168,7 \pm 22,4$	$41,5 \pm 13,3$

Примечание: 0 – отсутствие влияния; >10 – показывает, на сколько % уменьшилось негативное влияние используемой процедуры.

нениями параметров поведения, вызываемыми исследуемыми веществами. Для этого мы воспользовались наиболее простым способом установления возможных корреляционных связей между исследуемыми клеточными и поведенческими изменениями методом корреляции рангов по Спирмену.

Как следует из таблицы 2, вызываемое исследуемыми веществами уменьшение времени иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания (ослабление угнетения мотивации избавления от угрожающей ситуации) при вызванной неизбежным плавательным стрессом поведенческой депрессии обнаруживает достоверную корреляционную связь (0,943; $P < 0,05$) с их антиэксайтотоксическим действием. Столь же тесная корреляционная связь выявлена между способностью исследуемых веществ ослаблять повреждение нейронов, вызываемое оксидативным стрессом, и уменьшением времени иммобилизации крыс (табл. 2.). В то же время достоверная корреляционная связь между антианоксическим действием и способностью исследуемых веществ уменьшать время иммобилизации крыс отсутствует (табл. 2.).

Что касается способности исследуемых веществ увеличивать показатель предпочтения потребления раствора сахарозы (уменьшение ангедонии), то она имеет достоверную корреляционную связь (0,943; $P < 0,05$) только с их антиоксидативным компонентом церебропротективного действия. Антиэксайтотоксическое и антианоксическое действие исследуемых веществ не связано с их способностью ослаблять проявление ангедонии у крыс (табл. 2.).

Оксидативный стресс является общим патогенетическим механизмом, вовлеченным в развитие многих психических заболеваний, в том числе разных форм депрессии, генерализованных тревожных расстройств, шизофрении и других [16]. Усиление процессов перекисного окисления липидов зачастую связано с повреждением митохондрий, которое приводит к усилению образования активных форм кисло-

рода, изменяющих структуру и функции нейронов мозга и вызывающих ряд нейродегенеративных расстройств [17,18]. Установлено, что у больных разными формами депрессии в плазме крови повышен уровень оксидантов, но снижены уровни антиоксидантов и лечение разными группами антидепрессантов, наряду с ослаблением симптоматики заболевания, ослабляло эти нарушения [19, 20]. Именно присущая исследуемым веществам способность ослаблять вызываемые оксидативным стрессом повреждения нейронов и определяет их корригирующее влияние на проявления депрессивно-подобного фенотипа поведения.

Повышение внеклеточного уровня глутамата вызывает эксайтотоксическую гибель нейронов. Эксайтотоксичность обусловлена активацией преимущественно содержащих NR2B субъединицу НМДА глутаматных рецепторов, имеющих внесинаптическую локализацию, и нарушением кальциевого гомеостаза в нейронах [10, 21]. На фоне депрессивных расстройств у человека и воздействия хронического стресса у грызунов наблюдается снижение активности нейрональных и глиальных транспортеров глутамата EAAC1-3, и это приводит к росту внеклеточных уровней глутамата и развитию эксайтотоксических повреждений нейронов [22, 23]. Ослабление избыточной активации внесинаптических НМДА глутаматных рецепторов за счет блокады либо снижения плотности этой популяции рецепторов способствует сохранению нейронов лимбических структур мозга и уменьшению проявлений депрессивных расстройств у человека и, в экспериментах, у животных.

Выводы

Исследуемые вещества обладают индивидуальным набором компонентов церебропротективного действия в виде антиэксайтотоксического, антиоксидативного и антианоксического эффектов. Влияние этих веществ на нарушения поведения при моделировании стрессиндуцируемого депрессивно-подобного фено-

Таблица 2.

Матрица коэффициентов корреляции рангов по Спирмену между церебропротективной и поведенческой активностью исследуемых веществ при вызванной неизбежным плавательным стрессом поведенческой депрессии

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

Примечание: для данной выборки достоверный на уровне 0,05 коэффициент корреляции равен 0,850.

типа проявлялось уменьшением нарушения мотивации избавления и ангедонии. Установлена тесная корреляционная связь между антиоксидантным и антиэксайтотоксическим действием и способностью исследуемых веществ ослаблять нарушения мотивации избавления и меж-

ду антиоксидантным действием и ослаблением ангедонии у крыс в этих условиях. Антиоксидантический компонент церебропротективного действия исследуемых веществ не имеет связи с их поведенческой активностью.

Т.О. Зайка, Ю.В. Кузнецов, Д.В. Евдокимов, Ю.В. Сидорова, И.И. Абрамец

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СВЯЗИ МЕЖДУ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ И АНТИДЕПРЕССИВНЫМ ДЕЙСТВИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ

Цель: выяснить, какие компоненты церебропротективной активности исследуемых веществ определяют их антидепрессивное действие при моделировании поведенческой депрессии у крыс.

Материал и методы. В опытах на срезах гиппокампа крыс с помощью электрофизиологических методов определяли спектры церебропротективной активности производных бензимидазола – диакамфа, оксиндола – соединения Р-86, референтного препарата пирacetama и антидепрессантов имипрамина, амитриптилина и кетамина по их способности ослаблять повреждения пирамидных нейронов области СА1, вызываемые аноксией/агликемией, оксидативным стрессом, эксайтотоксическим действием N-метил-D-аспартата. На модели вызванного хроническим неизбегаемым плавательным стрессом депрессивно-подобного поведения крыс изучали влияние исследуемых веществ на время иммобилизации в тесте вынужденного плавания и показатель предпочтения потребления сладкого раствора. С помощью корреляционного анализа определяли связи отдельных компонентов церебропротективной активности и поведенческими эффектами исследуемых веществ.

Результаты. В результате электрофизиологических исследований выявлены индивидуальные спектры церебропротективной активности исследуемых веществ. В исследованиях на крысах обнаружено ослабление угнетения мотивации избавления от угрожающей ситуации и ангедонии при стресс-индуцируемой поведенческой депрессии под действием исследуемых веществ. Установлено, что корригирующее влияние исследуемых веществ на время иммобилизации обусловлено их антиоксидативным и антиэксайтотоксическим действием, а ослабление ангедонии связано преимущественно с их антиоксидативным действием. Корригирующее влияние веществ на нарушения поведения при депрессивно-подобном состоянии не связано с их антиоксидантической активностью.

Заключение. Только антиоксидативный и антиэксайтотоксический компоненты церебропротективной активности исследуемых веществ определяют их антидепрессивное действие.

Ключевые слова: церебропротекторы, антидепрессанты, аноксия, оксидативный стресс, эксайтотоксичность, повреждения нейронов, поведенческая депрессия, влияние веществ.

T.O. Zayka, Y.V. Kuznetsov, D.V. Evdokimov, Yu.V. Sidorova, I.I. Abramets

SEI HPE «M. Gorky Donetsk National Medical University», Donetsk

THE STUDY OF FUNCTIONAL LINK BETWEEN A CEREBROPROTECTIVE ACTIVITY AND ANTIDEPRESSANT ACTION OF DIFFERENT SUBSTANCES

Aim. It is necessary to find out which components of cerebroprotective activity of explored substances define their antidepressant action under simulation of behavioral depression at rats.

Materials and methods. It was defined by means of electrophysiological methods on rat hippocampal slices the spectrums of cerebroprotective activity derivatives of benzimidazole and oxindole – diacamp and substance R-86 respectively, referent preparation piracetam and antidepressants imipramine, amitriptyline and ketamine on their abilities to reduce of pyramidal neurons area CA1 damages evoked by anoxia/aglycemia, oxidative stress excitotoxic action of N-methyl-D-aspartate. It was explored an impact of used substances on duration of immobilization at forced swimming test and predictor preference of sweet solution uptake at model of rats

depression-like behavior evoked by not escaped swimming stress. The links between individual components cerebroprotective activity and behavioral effects of used substances were assessed by means of analysis of correlation.

Results. The individual spectrums of cerebroprotective activity of used substances were defined at electrophysiological experiments. Reduction of inhibition of motivation of dangerous situation escape and anhedonia under stress-induced depression-like behavior were defined in experiments on the rats. It was educed that correction impact of used substances on duration of immobilization is conditioned by their antioxidant and anti-excitotoxic action; reduction of anhedonia preferentially coupled with their antioxidant action. An optimizing impact of substances on behavioral violations under de-

pression-like status did not coupled with their antianoxic activity.

Conclusion. Only antioxidant and antiexcitotoxic components of cerebroprotective activity explored substances define their antidepressant action.

Key words: cerebroprotectors, antidepressants, anoxia, oxidative stress, excitotoxicity, damages of neurons, behavioral depression, action of substances.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kaiser R.H., Andrews-Hanna J.R., Wager T.D., Pizzagalli D.A. Large-scale network dysfunction in major depressive disorder: a meta-analysis of resting-state functional connectivity. *JAMA Psychiatry*. 2015; 72 (6): 603-611. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2015.0071
2. McEwen B.S., Nasca C., Gray J.D. Stress effects on neuronal structure: hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2016; 41 (1): 3-23. doi: 10.1038/npp.2015.171
3. Schmaal L., Hibar D.P., Samann P.G. et al. Cortical abnormalities in adults and adolescents with major depression based on brain scans from 20 cohorts worldwide in the ENIGMA Major Depressive Disorder Working Group. *Mol. Psychiatry*. 2017; 22 (6): 900-909. doi: 10.1038/mp.2016.60
4. Абрамец И.И., Евдокимов Д.В., Талалаенко А.Н. Влияние хронического введения антидепрессантов на повреждение нейронов гиппокампа и коры крысы, вызываемое действием НМДА. *Нейрофизиология*. 2010; 42 (1): 20-27.
5. Абрамец И.И., Евдокимов Д.В., Талалаенко А.Н. Ранние аноксические повреждения гиппокампа и их изменения, обусловленные хроническим действием антидепрессантов. *Нейрофизиология*. 2011; 43 (2): 122-132.
6. Zayka T.O., Evdokimov D.V., Abramets I.I. Studies of the effect of cerebroprotective substances on the course of stress-induced behavioral depression. *Research Results in Pharmacology*. 2018; 4 (3): 43-48. doi: 10.3897/rpharmacology.4.29946
7. Абрамец И.И., Евдокимов Д.В., Талалаенко А.Н. и др. Центральная глутаматергическая синаптическая передача при поведенческой депрессии у крыс. *Нейронауки: теор. та клін. аспекти*. 2006; 2 (1): 22-30.
8. Tian G.-F., Baker A.J. Protective effect of high glucose against ischemia-induced synaptic transmission damage in rat hippocampal slices. *J. Neurophysiol*. 2002; 88 (1): 236-248. doi: 10.1152/jn.00572.2001
9. de Almeida L.M., Leite M.C., Tomazi A.P. et al. Rosveratrol protects against oxidative injury induced by H2O2 in acute hippocampal slice preparations from Wistar rats. *Arch. Biochem. Biophys*. 2008; 480 (1): 27-32. doi: 10.1016/j.abb.2008.09.006
10. Liu Y., Wong T.P., Aarts M. et al. NMDA receptor subunits have differential roles in mediating excitotoxic neuronal death in vitro and in vivo. *J. Neurosci*. 2007; 27 (11): 2846-2857. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0116-07.2007
11. Sun P., Wang F., Wang L. et al. Increase in cortical pyramidal cell excitability accompanies depression-like behavior in mice: a transcranial magnetic stimulation study. *J. Neurosci*. 2011; 31 (45): 16464-16472. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1542-11.2011
12. Porsolt R.D., Bertin A., Jalfre M. «Behavioural despair» in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *Eur. J. Pharmacol*. 1978; 51 (3): 291-294. doi: 10.1016/0014-2999(78)90414-4
13. Benelli A., Filaferrero M., Bertolini A. et al. Influence of S-adenosyl-L-methionine on chronic mild stress-induced anhedonia in castrated rats. *Brit. J. Pharmacol*. 1999; 127 (3): 645-654. doi: 10.1038/sj.bjp.0702589
14. Jing L., Duan T., Tian M. et al. Despair-associated memory requires a slow onset CA1 long-term potentiation with unique underlying mechanisms. *Sci Rep*. 2015; 5: 15000. doi: 10.1038/srep15000
15. Richter-Levin G., Xu L. How could stress lead to major

REFERENCES

1. Kaiser R.H., Andrews-Hanna J.R., Wager T.D., Pizzagalli D.A. Large-scale network dysfunction in major depressive disorder: a meta-analysis of resting-state functional connectivity. *JAMA Psychiatry*. 2015; 72 (6): 603-611. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2015.0071
2. McEwen B.S., Nasca C., Gray J.D. Stress effects on neuronal structure: hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2016; 41 (1): 3-23. doi: 10.1038/npp.2015.171
3. Schmaal L., Hibar D.P., Samann P.G. et al. Cortical abnormalities in adults and adolescents with major depression based on brain scans from 20 cohorts worldwide in the ENIGMA Major Depressive Disorder Working Group. *Mol. Psychiatry*. 2017; 22 (6): 900-909. doi: 10.1038/mp.2016.60
4. Abramets I.I., Evdokimov D.V., Talalaenko A.N. Vliyanie khronicheskogo vvedeniya antidepressantov na povrezhdenie neuronov gippokampa i kory krys, vyzyvayemoe deistviem NMDA. *Neirofiziologiya*. 2010; 42 (1): 20-27 (in Russian).
5. Abramets I.I., Evdokimov D.V., Talalaenko A.N. Rannie anoksicheskie povrezhdeniya gippokampa i ikh izmeneniya, obuslovlennyye khronicheskim deistviem antidepressantov. *Neirofiziologiya*. 2011; 43 (2): 122-132 (in Russian).
6. Zayka T.O., Evdokimov D.V., Abramets I.I. Studies of the effect of cerebroprotective substances on the course of stress-induced behavioral depression. *Research Results in Pharmacology*. 2018; 4 (3): 43-48. doi: 10.3897/rpharmacology.4.29946
7. Abramets I.I., Evdokimov D.V., Talalaenko A.N. i dr. Tsentral'naya glutamatergicheskaya sinapticheskaya peredacha pri povedencheskoi depressii u krys. *Neironauki: teor. ta klin. aspekti*. 2006; 2 (1): 22-30 (in Russian).
8. Tian G.-F., Baker A.J. Protective effect of high glucose against ischemia-induced synaptic transmission damage in rat hippocampal slices. *J. Neurophysiol*. 2002; 88 (1): 236-248. doi: 10.1152/jn.00572.2001
9. de Almeida L.M., Leite M.C., Tomazi A.P. et al. Rosveratrol protects against oxidative injury induced by H2O2 in acute hippocampal slice preparations from Wistar rats. *Arch. Biochem. Biophys*. 2008; 480 (1): 27-32. doi: 10.1016/j.abb.2008.09.006
10. Liu Y., Wong T.P., Aarts M. et al. NMDA receptor subunits have differential roles in mediating excitotoxic neuronal death in vitro and in vivo. *J. Neurosci*. 2007; 27 (11): 2846-2857. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0116-07.2007
11. Sun P., Wang F., Wang L. et al. Increase in cortical pyramidal cell excitability accompanies depression-like behavior in mice: a transcranial magnetic stimulation study. *J. Neurosci*. 2011; 31 (45): 16464-16472. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1542-11.2011
12. Porsolt R.D., Bertin A., Jalfre M. «Behavioural despair» in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *Eur. J. Pharmacol*. 1978; 51 (3): 291-294. doi: 10.1016/0014-2999(78)90414-4
13. Benelli A., Filaferrero M., Bertolini A. et al. Influence of S-adenosyl-L-methionine on chronic mild stress-induced anhedonia in castrated rats. *Brit. J. Pharmacol*. 1999; 127 (3): 645-654. doi: 10.1038/sj.bjp.0702589
14. Jing L., Duan T., Tian M. et al. Despair-associated memory requires a slow onset CA1 long-term potentiation with unique underlying mechanisms. *Sci Rep*. 2015; 5: 15000. doi: 10.1038/srep15000

- depressive disorder? *IBRO Reports*. 2018; 4 (1): 38-43. doi: 10.1016/j.ibror.2018.04.001
16. Ranjana K., Negi R., Pande D., Khanna S., Khanna H.D.. Markers of oxidative stress in generalized anxiety psychiatric disorder: therapeutic implications. *J. Stress Physiol. Biochemistry*. 2012; 8 (2): 32-38.
 17. Pandya C.D., Howell K.R., Pillai A. Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2013; 46: 214-223. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.10.017
 18. Moretti M., Colla A., de Oliveira Balen G. et al. Ascorbic acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress. *J. Psychiatr. Res.* 2012; 46 (3): 331-340. doi: 10.1016/j.jpsychires.2011.11.009
 19. Jiménez-Fernández S., Gurpegui M., Díaz-Atienza F. Oxidative stress and antioxidant parameters in patients with major depressive disorder compared to healthy controls before and after antidepressant treatment: results from a meta-analysis *J. Clin Psychiatry*. 2015; 76 (12): 1658-1667. doi: 10.4088/JCP.14r09179
 20. Lee S.Y., Lee S.J., Han C., Patkar A.A., Masand P.S., Pae C.U. Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: Targets for novel antidepressants. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2013; 46: 224-235. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.09.008
 21. Musazzi L., Treccani G., Mallei A., Popoli M. The action of antidepressants on the glutamate system: regulation of glutamate release and glutamate receptors. *Biol. Psychiatry*. 2013; 73 (12): 1180-1188. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.11.009
 22. Medina A., Burke S., Thompson R.C. et al. Glutamate transporters: a key piece in the glutamate puzzle of major depression disorder. *J. Psychiatr. Res.* 2013; 47 (9): 1150-1156. doi: 10.1016/j.jpsychires
 23. Duman R.S., Aghajanian G.K. Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets. *Science*. 2012; 338 (6103): 68-72. doi: 10.1126/science.1222939
 15. Richter-Levin G., Xu L. How could stress lead to major depressive disorder? *IBRO Reports*. 2018; 4 (1): 38-43. doi: 10.1016/j.ibror.2018.04.001
 16. Ranjana K., Negi R., Pande D., Khanna S., Khanna H.D.. Markers of oxidative stress in generalized anxiety psychiatric disorder: therapeutic implications. *J. Stress Physiol. Biochemistry*. 2012; 8 (2): 32-38.
 17. Pandya C.D., Howell K.R., Pillai A. Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2013; 46: 214-223. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.10.017
 18. Moretti M., Colla A., de Oliveira Balen G. et al. Ascorbic acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress. *J. Psychiatr. Res.* 2012; 46 (3): 331-340. doi: 10.1016/j.jpsychires.2011.11.009
 19. Jiménez-Fernández S., Gurpegui M., Díaz-Atienza F. Oxidative stress and antioxidant parameters in patients with major depressive disorder compared to healthy controls before and after antidepressant treatment: results from a meta-analysis *J. Clin Psychiatry*. 2015; 76 (12): 1658-1667. doi: 10.4088/JCP.14r09179
 20. Lee S.Y., Lee S.J., Han C., Patkar A.A., Masand P.S., Pae C.U. Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: Targets for novel antidepressants. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2013; 46: 224-235. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.09.008
 21. Musazzi L., Treccani G., Mallei A., Popoli M. The action of antidepressants on the glutamate system: regulation of glutamate release and glutamate receptors. *Biol. Psychiatry*. 2013; 73 (12): 1180-1188. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.11.009
 22. Medina A., Burke S., Thompson R.C. et al. Glutamate transporters: a key piece in the glutamate puzzle of major depression disorder. *J. Psychiatr. Res.* 2013; 47 (9): 1150-1156. doi: 10.1016/j.jpsychires
 23. Duman R.S., Aghajanian G.K. Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets. *Science*. 2012; 338 (6103): 68-72. doi: 10.1126/science.1222939