

НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«КАРАГАНДИНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.8/092:612.015.38:615.27-085

На правах рукописи

ЕПИФАНЦЕВА ЕЛЕНА ВАЛЕРИЕВНА

Оценка молекулярно-клеточных изменений при хроническом стрессе и на фоне фармакологической коррекции. Экспериментальное исследование

6D110100 - Медицина

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные консультанты:
кандидат медицинских наук,
ассоциированный профессор
Клюев Дмитрий Анатольевич
доктор биологических наук, профессор
Муравлева Лариса Евгеньевна
Зарубежный научный консультант:
MD, PhD, DMSc, профессор
Kitova Tanya Todorova

Республика Казахстан
Караганда, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Хронический стресс - глобальная проблема общественного здоровья.....	13
1.2 Хронический стресс в структуре факторов риска развития патологических процессов и поведенческих расстройств.....	24
1.3 Хронический стресс как фактор модификации биохимических процессов в организме.....	29
1.4 Хронический стресс как фактор модификации морфологической структуры головного мозга.....	46
1.5 Терапевтические принципы коррекции последствий хронического стресса.....	50
1.6 Проблема выбора экспериментальной модели стресс-индуцированных расстройств	56
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	65
2.1 Дизайн исследования.....	65
2.1.1 Формирование модели стресс-индуцированного расстройства.....	66
2.1.2 Сравнительное изучение эффективности фармакотерапии у крыс с моделью стресс-индуцированного расстройства.....	69
2.2 Материалы исследования.....	71
2.3 Методы поведенческой оценки в эксперименте.....	72
2.4. Биохимические методы исследования.....	74
2.4.1 Определение активности каталазы в мозге крыс.....	74
2.4.2 Определение малонового диальдегида в ткани мозга, эритроцитах и плазме крови.....	74
2.4.3 Определение реактивных карбонильных производных белков в ткани мозга, эритроцитах и плазме крови.....	75
2.4.4 Определение показателей пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови.....	77
2.4.5 Определение мембраносвязанного гемоглобина в эритроцитах крови.....	78
2.4.6 Определение метилглиоксаля в эритроцитах крови.....	78
2.4.7 Определение кортизола в плазме крови.....	78
2.5 Патоморфологические методы исследования.....	78
2.6 Статистические методы исследования.....	80
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	82
3.1 Оценка валидности модели ХНУС при формировании стресс-индуцированного расстройства у крыс.....	82
3.1.1 Анализ результатов оценки в поведенческих тестах у крыс.....	82
3.1.2 Оценка изменений показателей окислительного метаболизма в эритроцитах и плазме крови крыс.....	95
3.1.3 Оценка изменений показателей пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови крыс.....	100

3.1.4	Динамика изменения уровня кортизола в плазме крови крыс.....	115
3.1.5	Оценка показателей окислительного метаболизма в мозге крыс.....	120
3.1.6	Оценка патоморфологических изменений в мозге крыс.....	122
3.2	Сравнительная оценка эффекта терапевтического воздействия при стресс-индуцированных расстройствах у крыс в эксперименте.....	132
3.2.1	Анализ результатов оценки в поведенческих тестах у крыс.....	132
3.2.2	Оценка изменений показателей окислительного метаболизма в эритроцитах и плазме крови крыс.....	151
3.2.3	Оценка изменений показателей пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови крыс.....	158
3.2.4	Динамика изменения уровня кортизола в плазме крови крыс.....	183
3.2.5	Оценка показателей окислительного метаболизма в мозге крыс.....	185
3.2.6	Оценка патоморфологических изменений в мозге крыс.....	192
3.3	Концепция роли хронического стресса через изменения процессов окислительного метаболизма в развитии патологического процесса и поведенческих расстройств.....	197
3.4	Концепция терапии поведенческих расстройств.....	200
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	201
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	206
	ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	235
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	237
	ПРИЛОЖЕНИЕ В.....	238
	ПРИЛОЖЕНИЕ Г.....	239
	ПРИЛОЖЕНИЕ Д.....	240
	ПРИЛОЖЕНИЕ Е.....	241
	ПРИЛОЖЕНИЕ Ж.....	242

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие нормативные документы:

Закон Республики Казахстан от 18 февраля 2011 года № 407-IV «О науке» (с изменениями и дополнениями по состоянию на 01.07.2023 г.)

Приказ Министра образования и науки Республики Казахстан «Об утверждении Правил присуждения степеней» от 31 марта 2011 года № 127 в редакции приказа Министра науки и высшего образования РК от 18.07.2024 № 352.

Приказ Министра образования и науки Республики Казахстан «Об утверждении Типового положения о диссертационном совете» от 31 марта 2011 года № 126, в редакции приказа и.о. Министра науки и высшего образования РК от 29.08.2024 № 425

Инструкция по оформлению диссертации и автореферата. Издание третье, дополненное и исправленное. Утверждена приказом председателя ВАК МОН РК от 28 сентября 2004г. №377-3ж. – Алматы 2004.

Положение о диссертационном совете НАО «МУК» от 02.11.2023 (версия 2)

Решение комитета по биоэтике НАО «Медицинского университета Караганды» № 65 (протокол № 20 от 17.06.2019).

Письмо-заключение Локальной комиссии по биоэтике НАО «Карагандинский медицинский университет» (присвоенный № 65–1 от 17.06.2019), (протокол № 15 от 08.10.2024).

ГОСТ 7.32–2017 с поправкой от 2019 г. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления

ГОСТ 7.1–2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.9–95 (ИСО 214–76). Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.12–93. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСО РК 5.04.034–2011: Государственный общеобязательный стандарт образования Республики Казахстан. Послевузовское образование. Докторантура. Основные положения (изменения от 23 августа 2012 г. № 1080).

ГОСТ 2.105–95. Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие сокращения и обозначения:

CeA – Мозговое миндалевидное тело (миндалины мозга)

DSM-V – Диагностическое и статистическое руководство по психическим расстройствам

FFAR – Рецепторы свободных жирных кислот

H₂O₂ – Перекись водорода

HDRS – Hamilton Depression Rating Scale

HMGB-1 – Сигнал опасности с высокой подвижностью

IL – Интерлейкин

mTOR – Механистическая мишень рапамицина

NMDA – N-метил-D-аспартат рецептор

-OH – Гидроксильный радикал

PSA-NCAM – Снижение экспрессии молекулы адгезии нервных клеток

rSMG – Правая надмаргинальная извилина

SCFAs – Короткоцепочечные жирные кислоты

SMG – Надмаргинальная извилина

TCA – Трикарбоновые кислоты

мПФК – Медиальная префронтальная кора

A – Аденин

АКТГ – Адренокортикотропный гормон

АФА – Активные формы азота

АФК – Активные формы кислорода

БЛКМ – Базолатеральный комплекс миндалевидного тела

ВДА – Вертикальная двигательная активность

ВКМ – Внутрикорткальный миелин

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

Г – Гуанин

ГАМК - γ-аминомасляная кислота

ГАДФ – Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа

ГН – Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось

ГК – Глюкокортикоиды

Гк – Гипоксантин

Гр – Груминг

ДПСР – Длительность пребывания в светлых рукавах

ДПТР – Длительность пребывания в темных рукавах

ДПЦ – Длительность посещений центра

ИЛ – Интерлейкин

ИМАО – Ингибиторы моноаминооксидазы

ИПО – Индекс пуринового обмена

КА – Каталазная активность

КПП – Количество горизонтальных перемещений

КД – Количество дефекаций

КПГ – Конечные продукты усиленного гликирования
КПСР – Количество посещений светлых рукавов
КПТР – Количество посещений темных рукавов
К – Ксантин
КУ – Количество уринаций
ЛДГ – Лактатдегидрогеназа
ЛПИИ – Латентный период иммобилизации (секунды)
МАО – Моноаминоксидаза
МГ – Метилглиоксаль
МДА – Малоновый диальдегид
МК – Мочевая кислота
МКБ-10 – Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем 10-го пересмотра
МКБ-11 – Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем 11 пересмотра
МНТФ – Мозговой нейротрофический фактор
мРНК – Матричная РНК
МСГ – Мембраносвязанный гемоглобин
Мт-ДНК – Митохондриальная ДНК
МТФ – Митохондриальный транскрипционный фактор
НА - Норадреналин
 $O^{-2}O^{2-}$ - Супероксид
ПГЕ – Простагландин Е
ПОЛ – Перекисное окисление липидов
ПТГ – Показатель тяжести гипоксии
РКПБ – Реактивные карбонильные производные белков
РКПГ – Рецептор конечных продуктов гликирования
САМ – Симпатико-адрено-медуллярная ось
Свешивания – Количество свешиваний с рукава
СИ – Суммарной иммобилизации (секунды)
СИОЗС – Селективный ингибитор обратного захвата серотонина
СИОЗСиН – Селективный ингибитор обратного захвата серотонина и норадреналина
СИР – Стресс-индуцированное расстройство
СНС – Симпатическая нервная система
Стойки – Количество стоек
ТД – Транспортёр дофамина
ФНО – Фактор некроза опухоли
ХНУС – Хронический непредсказуемый умеренный стресс
ЦМ – Центральная миндалина
ЦНС – Центральная нервная система
ЦР – Цитоплазматический рецептор
ЭР – Эндоплазматический ретикулум
ЯФ-кВ – Ядерный фактор каппа В

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Психические и поведенческие расстройства составляют значительную долю глобального бремени болезни. Поддержание психического здоровья является основой благополучия человека и ведущим приоритетом Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 2022) и включено в план действий в области психического здоровья на 20130- 2030 годы.

В настоящее время одним из ведущих факторов риска, наносящих существенный ущерб здоровью, признан стресс [1, 2]. Согласно Selye, стресс, представляет собой неспецифический ответ организма на любое изменение условий, требующее приспособления. Длительное воздействие системных и эмоциональных стрессогенных факторов требует более активной перестройки и адаптации организма человека. Интенсификация жизни в условиях чрезмерной урбанизации городов активизирует социально-поведенческие стрессоры и повышает степень подверженности населения стрессу [3, 4, 5].

Наиболее распространенными среди населения и сложными для дифференциальной диагностики являются невротические, связанные со стрессом и соматоформные расстройства, развитие которых объясняется стрессогенной моделью возникновения [6]. Важную роль в риске возникновения и формирования стрессовых расстройств играет индивидуальная предрасположенность или уязвимость, при обязательном воздействии стрессового фактора, причём для невротических расстройств, в патогенезе персонифицированная реакция личности на стрессовое событие является преобладающей [7].

Доказана повреждающая роль стресса в развитии соматической патологии сердечно-сосудистой, пищеварительной, нейроэндокринной, репродуктивной, иммунной и других систем [8, 9, 10]. В основе характерных повреждений, развивающихся в результате стрессорных воздействий, независимо от вида стресса, лежат нарушения вегетативного и гуморального баланса, выражающиеся в сдвигах медиаторных процессов, тканевого метаболизма с активацией механизмов оксидативного стресса [11, 12]. Результатом активации свободнорадикального окисления является повреждение биологических мембран с утратой ими барьерной, рецепторной, каталитической и других функций с последующим структурным и функциональным повреждением тканей и органов [13, 14]. Имеются данные о снижении уровня свободнорадикального окисления и карбониловых белков в условиях экспериментального гипокинетического стресса у крыс [15, 16]. Многочисленные исследования подтверждают тесную связь стресс-индуцированных невротических расстройств с развитием соматической патологии, механизмом индуцирования которой является каскад окислительной модификации белков [17]. Накопленные данные свидетельствуют о том, что чрезмерное производство свободных радикалов или окислительный стресс могут быть вовлечены в патофизиологию шизофрении и биполярного расстройства [17, 18, 19, 20]. Аномалии, опосредованные свободными радикалами, могут вносить

вклад в специфические аспекты шизофренической симптоматики и осложнения ее лечения антипсихотическими препаратами, а также развитие поздней дискинезии [21]. Феномен окислительно-модифицированных протеинов в живых организмах может рассматриваться в качестве относительно стабильных диагностических параметров их структурно-функционального состояния, что имеет большое значение в клинической практике [22, 23].

Учитывая сложные патогенетические механизмы формирования стрессовых расстройств, модель хронического непредсказуемого стресса позволяет воссоздать и изучить возникающие поведенческие, патоморфологические и биохимические изменения в организме подопытных животных, что позволяет повысить степень достоверности результатов психотропного эффекта изучаемых препаратов.

В качестве наиболее актуальной модели для формирования стрессового расстройства у лабораторных животных рассматривается модель «Хронического непредсказуемого умеренного стресса» (ХНУС), связанная с длительным воздействием непредсказуемого стресса [24].

В настоящее время острым вопросом является характер и степень молекулярно-клеточных изменений при воздействии хронического стресса с формированием поведенческих расстройств и динамика их изменений на фоне фармакологической терапии, ввиду сложности достижения желаемого стабильного результата терапии и длительности остаточных явлений расстройств.

Цель исследования

Оценить молекулярно-клеточные изменения при индуцированных умеренным хроническим стрессом расстройствах и после фармакологической коррекции в экспериментальной модели хронического непредсказуемого умеренного стресса.

Задачи исследования

Задача 1. Создать модель стресс-индуцированного расстройства у крыс, используя критерии выделяемых поведенческих паттернов на основании исследования в поведенческих тестах.

Задача 2. Выявить и изучить уровень и направленность изменений окислительного метаболизма на основании биохимических показателей в крови и гомогенате головного мозга, кортизола крови крыс, характерные для стресс-индуцированных расстройств.

Задача 3 Провести оценку структурно-функционального состояния головного мозга крыс с моделью хронического непредсказуемого стресса и в группе сравнения.

Задача 4. Дать сравнительную характеристику влияния плацебо, гармина гидрохлорида и амитриптилина на поведенческие реакции крыс с моделью хронического непредсказуемого умеренного стресса.

Задача 5. Дать сравнительную характеристику влияния плацебо, гармина гидрохлорида и амитриптилина на уровень продуктов окислительного

метаболизма в крови и гомогенате головного мозга и кортизола крови крыс с моделью хронического непредсказуемого умеренного стресса.

Задача 6. Дать сравнительную характеристику влияния плацебо, гармина гидрохлорида и амитриптилина на структурно-функциональное состояние головного мозга у крыс с моделью хронического непредсказуемого умеренного стресса.

Научная новизна

1. Впервые была произведена комплексная оценка динамики изменений реактивных карбонильных производных белков, малонового диальдегида в крови и мозге крыс, каталазной активности в мозге, пуриновых производных в крови, мембраносвязанного гемоглобина, метилглиоксаля в эритроцитах и кортизола в плазме крови, морфофункциональных изменений головного мозга в эксперименте при формировании модели хронического непредсказуемого умеренного стресса. Получено свидетельство о внесении в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом №7372 от 30 декабря 2019 года, произведение науки, название объекта «Метод формирования стресс-индуцированных расстройств в эксперименте у животных» (Приложение А).

2. Впервые была произведена комплексная оценка динамики изменений реактивных карбонильных производных белков, малонового диальдегида в крови и мозге крыс, каталазной активности в мозге, пуриновых производных в крови, мембраносвязанного гемоглобина, метилглиоксаля в эритроцитах и кортизола в плазме крови, морфофункциональных изменений головного мозга в эксперименте при фармакологической коррекции у крыс с моделью хронического непредсказуемого умеренного стресса.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Разработанная модель хронического непредсказуемого умеренного стресса (ХНУС) эффективно воспроизводит поведенческие и биохимические изменения, связанные с депрессивным и тревожным состоянием у лабораторных животных

2. Хронический стресс вызывает устойчивые изменения окислительного метаболизма в крови и тканях головного мозга экспериментальных животных.

3. Хронический стресс вызывает стойкие структурные изменения головного мозга, связанные с нарушением кровоснабжения и трофики тканей.

4. Фармакологическая коррекция амитриптилином и гармина гидрохлоридом способствует снижению депрессивного поведения у животных с моделью ХНУС, однако не восстанавливает исходный уровень тревожности.

5. Применение амитриптилина и гармина гидрохлорида усугубляет изменения окислительного метаболизма у животных с моделью ХНУС.

6. Фармакологическая терапия амитриптилином и гармина гидрохлоридом не устраняет структурные повреждения головного мозга у животных с моделью ХНУС.

Теоретическая значимость исследования

1. Полученные данные позволяют расширить и дополнить фундаментальные представления о молекулярно-клеточных патогенетических механизмах формирования стресс-индуцированных расстройств при воздействии фактора хронического стресса на системные биохимические процессы организма.

2. Результаты исследования позволяют объяснить влияние хронического стресса как механизма дезадаптации, характеризующегося не только поведенческими нарушениями, но и системными процессами, вовлекающие механизмы сохранения гомеостаза с последующими системными эффектами повреждения.

3. Изучение патоморфологической картины структурно-функциональных изменений вещества головного мозга крыс под влиянием ХНУС демонстрирует признаки нейродегенеративных процессов, и не ограничивается поведенческими нарушениями.

4. Результаты исследования дают основание для объяснения значения хронического стресса в развитии значительного количества соматической патологии.

5. Произведено сопоставление результатов изучаемых показателей фоне плацебо-контролируемого лечения гармина гидрохлоридом и амитриптилином у крыс с ХНУС, представляющую информацию о характере и сроках обратного развития изменений, их пролонгации и состоянии изучаемого показателя на момент минимального рекомендованного срока фармакотерапии.

Практическая значимость

1. Была апробирована и воспроизведена модель хронического непредсказуемого умеренного стресса у крыс, подтвержденная поведенческими и молекулярно-клеточными показателями.

2. Результаты исследования внедрены в образовательную деятельность кафедры физиологии НАО «Карагандинский медицинский университет» по дисциплине: Модуль «Механизмы болезней»: Дисциплина «Нервная система» под наименованием «Динамика молекулярных изменений при формировании стресс-индуцированных расстройств». Акт внедрения результатов НИР № 28 от 30.10.2024 г. (Приложение Б).

3. Результаты исследования включены в перечень методик Научно-исследовательской лаборатории НАО ««Карагандинский медицинский университет»» под наименованием «Метод формирования стресс-индуцированных расстройств в эксперименте у животных» Акт внедрения результатов НИР № 24 от 14.10.2024 г. (Приложение В).

4. На основании полученных данных о сохранении биохимических и структурно-функциональных нарушений через 3 недели фармакотерапии, при прекращении воздействия хронического стресса на момент ее начала, нами подтверждено, что фармакотерапия требует расширения границ применения по срокам ее проведения.

5. Результаты исследования внедрены в образовательную деятельность кафедры клинической фармакологии и доказательной медицины НАО «Карагандинский медицинский университет» по дисциплине: «Клиническая фармакология-1» для резидентов специальности «Клиническая фармакология» 1-го года обучения, под наименованием «Динамика молекулярных изменений при фармакологической коррекции стресс-индуцированных расстройств». Акт внедрения результатов НИР № 36 от 09.12.2024 г. (Приложение Г).

6. Результаты исследования включены в клиническую деятельность как рекомендации, включенные в план диагностики в Клинике медицинского университета НАО ««Карагандинский медицинский университет»» под наименованием «Оценка динамики изменения клинико-биохимических параметров у пациентов при фармакологической коррекции стресс-индуцированных расстройств» Акт внедрения результатов НИР № 31 от 21.11.2024 г. (Приложение Д).

Личный вклад автора

Диссертантом была проведена экспериментальная часть исследования. Формирование модели ХНУС, исследование животных в поведенческих тестах, забор биологического материала, проведение биохимических исследований совместно с научными сотрудниками лаборатории, изучение гистологических препаратов под контролем д.м.н., профессора Тусупбековой М.М., доставка и подготовка биологического материала, участие в подготовке гистологических препаратов, проведение статистических расчётов, описание и обобщении полученных результатов.

Связь диссертации с другими научно-исследовательскими работами

Диссертация выполнялась как на базе АО "Международный научно-производственный Холдинг "Фитохимия" в рамках научно-исследовательской программы ИРН № BR05236584 «Разработка новых фитопрепаратов и их фармакологические и клинические исследования» (2018-2020) и научно-исследовательского проекта ИРН № AP08052389 «Разработка нового нейротропного препарата: фармакологические и клинические исследования» (2020-2022), финансируемых МОН РК, так и на кафедре биологической химии, кафедре патоморфологии, лаборатории коллективного пользования НАО МУК.

Апробация результатов

Основные положения и результаты работы были представлены на: научно-практической конференции молодых ученых «PhD Scientific Day», Караганда, 20 сентября 2019 года; IX международном форуме кардиологов и терапевтов, Москва, 25–27 марта 2020 г.; 27th International Symposium on Morphological Sciences - ISMS 2021, апрель 2021 г.; International Scientific Conference «Scientific research of the SCO countries: synergy and integration» Beijing (Пекин, China) – August 2019.

Предварительное обсуждение диссертационной работы проходило на расширенном заседании «Института наук о жизни» НАО КМУ, протокол № 3 от 21 ноября 2024 года.

Публикации по теме диссертационной работы

По материалам диссертации опубликовано 13 трудов.

В изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Республики Казахстан (3 статьи в «Медицина и экология», 1 статья в «Нейрохирургия и неврология Казахстана»), опубликовано 4 работы.

В изданиях, входящих в базу данных Scopus, опубликовано 4 публикации, в том числе 3 статьи (2 статьи в OAMJMS, E-ISSN:1857-9655 – 2020 год – 48 процентиль, 1 статья в General Medicine ISSN:1311-1817 – 2020 год – 2 процентиль и 1 тезис в Annals of Anatomy. Abstracts part I, 27th International Symposium on Morphological Sciences - ISMS 2021, ISSN:0940-9602, E-ISSN:1618-0402 – 2021 год – 76 процентиль).

В материалах международных конференций опубликовано 2 статьи и 2 тезиса.

1 свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом №7372 от 30 декабря 2019 года.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 234 страницах, состоит из введения, основной части, собственных концепций, заключения и списка использованных источников. Диссертация имеет 7 приложений.

В работе содержится 46 таблиц и 76 рисунков.

Список литературы включает 395 источников на русском и английском языках.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Хронический стресс - глобальная проблема общественного здоровья

Стресс признан важной проблемой в фундаментальных и клинических исследованиях в области неврологии, основанных на основополагающих исторических исследованиях Walter Canon и Hans Selye в прошлом веке, когда понятие стресса появилось в биологической и адаптивной перспективе. Многие исследования, проведенные после этого периода, расширили знания в области стресса. С тех пор было обнаружено, что реакция на стрессовые стимулы вырабатывается и запускается известной теперь системой стресса, который объединяет большое разнообразие структур мозга, которые в совокупности способны обнаруживать события и интерпретировать их как реальные или потенциальные угрозы. Нейробиология стресса и нейробиология социального поведения тесно переплетены. Социальное окружение взаимодействует со стрессом практически на всех фронтах: социальные взаимодействия могут быть сильными стрессорами; они могут смягчить реакцию на внешний стрессор; и социальное поведение часто меняется в ответ на стрессовый жизненный опыт.

Стресс — это состояние угрозы гомеостазу, вызванное психологическим, экологическим или физиологическим стрессором. С быстрым развитием науки и техники, а также экономики и сильной социальной конкуренции характер стресса резко изменился [24, 25]. Стрессовые события вызывают множественные нейрхимические, нейротрансмиттерные и гормональные изменения, главным образом активируя симпатико-адрено-медуллярную (САМ) ось и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую (ГГН) ось. Когда стрессовые стимулы находятся под контролем, организм реагирует на них физиологическим образом.

Однако разные типы стрессоров задействуют разные сети мозга, что требует точно настроенной функциональной нейроанатомической обработки [26]. Эта интеграция информации от самого стрессора может привести к быстрой активации САМ оси и оси ГГН – двух основных компонентов, участвующих в реакции на стресс. Сложность реакции на стресс не ограничивается нейроанатомией или медиаторами осей САМ и ГГН, но также различается в зависимости от времени и продолжительности воздействия стрессора, а также его краткосрочных и / или долгосрочных последствий. Однако, когда стрессовые стимулы пролонгированы или преувеличены происходит активация различных патофизиологических процессов.

За последние два десятилетия накопились данные, указывающие на то, что тяжелый или продолжительный (хронический) стресс приводит к повышенному риску физических и психических расстройств, которые определяются как заболевания, связанные со стрессом. Стресс является общим фактором риска 75–90% нозологий, в том числе, вызывающих наибольшую заболеваемость и смертность. Согласно исследованиям, наиболее распространенными заболеваниями, связанными со стрессом, являются сердечно-сосудистые заболевания, такие как гипертония и атеросклероз, метаболические заболевания

- диабет и неалкогольная жировая болезнь печени, психотические и нейродегенеративные заболевания [27].

Идентификация нейронных цепей стресса, а также их взаимодействие с молекулами-посредниками во времени имеет решающее значение не только для понимания физиологических реакций на стресс, но и для понимания их влияния на психическое здоровье.

Стресс признан важной проблемой в фундаментальных и клинических исследованиях в области неврологии и психиатрии [28, 29]. Хотя это физиологическое явление имеет основополагающее значение для выживания, оно также тесно связано с рядом нарушений психоневрологических функций, включая депрессию, тревогу, посттравматическое стрессовое расстройство, расстройство адаптации, в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го издания (МКБ-10) [30, 31, 32, 33, 34, 35]. Исследования, посвященные механизмам стресса, по-прежнему сложны, но определенное количество исследований на животных и людях внесли существенный вклад и прогресс в последние годы, согласно обзору Hariri and Holmes (2015) [36].

Стресс — неотъемлемая часть жизни каждого человека, и, вероятно, именно его нельзя или не следует устранять. Умеренные и контролируемые уровни стресса полезны для физического и психического здоровья человека [37]. Однако тяжелые перегрузки и неконтролируемый стресс могут наносить вред и становиться причиной повышенного риска заболеваний (сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта и других) [38, 39] и психических расстройств (депрессии, посттравматического стрессового расстройства и прочих) [40, 41]. Тем не менее, конкретные механизмы влияния стресса на формирование психоневрологической патологии, требуют дальнейшего изучения в целях лучшего понимания фундаментальных принципов их формирования с последующей интеграцией их в клиническую практику.

В начале прошлого века североамериканский физиолог Walter Bradford Cannon (1915) после ряда исследований составил сборник висцеральных приспособительных реакций на различные раздражители. В этой подборке, которая в основном проводилась в физиологических лабораториях Гарвардского университета, описываются телесные изменения, происходящие в связи с ноцицептивными событиями, голодом и холодом, физическими упражнениями и сильными эмоциями. W.Cannon отмечал, что функции, устанавливающие и поддерживающие энергетические резервы организма в состоянии покоя, в условиях стрессовой ситуации, немедленно усиливаются или полностью прерываются для мобилизации большей энергии. Эта мобилизация позволяет улучшить потенциальную реакцию побега и нападения и/или защиты. Исходя из этих наблюдений, W.Cannon предложил то, что он назвал реакцией «бей или беги» [42].

Несколько лет спустя W.Cannon ввел термин «гомеостаз», основанный на идее Claude Bernard «milieu intérieur» (внутренняя среда) [42, 43]. W.Cannon описывал постоянство обмена в клетках и системах, независимо от условий внешней среды, с целью поддержания необходимого для функционирования

организма равновесия. Концепция гомеостаза вместе с реакцией «бей или беги» легла в основу исследований стресса.

Hans Selye, в период своего медицинского обучения, обнаружил, что у пациентов, страдающих разными заболеваниями симптомы формируют синдромы, схожие по своим проявлениям, но принадлежащие различным заболеваниям. Позже в экспериментах по поиску новых гормонов из экстракта коры яичников коров на кафедре биохимии в Университете Макгилла в Монреале Selye отмечал схожие изменения. При введении различных токсических веществ и использовании повреждающего воздействия различных экстрактов отмечались: увеличение размеров коры надпочечников, язвы желудочно-кишечного тракта, а также инволюция тимуса и лимфатических узлов, формируя, так называемый, «общий адаптационный синдром», характеризующийся совокупностью неспецифических реакций. Общий адаптационный синдром по Selye, развиваются в три стадии: 1 – фаза тревоги, с острыми проявлениями; 2 – фаза резистентности, с исчезновением острых проявлений; и 3 – фаза истощения, когда может возобновиться реакция первой стадии или наступить коллапс организма [32, 44]. Selye первым определил стресс с биологической точки зрения как «неспецифический ответ организма на любое предъявляемое к нему требование» [45, 46, 47].

Ученые обнаружили, что реакция на стрессовые стимулы вырабатывается и запускается известной сейчас системой стресса, которая объединяет большое разнообразие мозговых структур, которые в совокупности способны обнаруживать события и интерпретировать их как реальную или потенциальную угрозу - стрессор [47]. После этого периода было проведено множество исследований, в результате которых были получены еще большие знания в области стресса [29].

Таким образом, восприятие реальной или потенциальной угрозы приводит к высвобождению молекул-посредников. Взаимодействие между этими молекулами с соответствующими рецепторами на периферии и в головном мозге приводит к реакции на стресс, которая с помощью физиологических и поведенческих механизмов восстанавливает гомеостаз организма и способствует адаптации, как представлено на Рисунке 1 [26, 48].

Обработка и преодоление стрессовых ситуаций требует включения сложных механизмов, которые объединяют мозг и тело. Реакция на стрессовые стимулы опосредуется широким разнообразием структур мозга, которые в совокупности способны обнаруживать или интерпретировать события как реальные или потенциальные угрозы (стрессоры). Восприятие этих событий как стрессоров включает в себя различные сети в зависимости от того, является ли это физическим или психологическим стрессором. Идентификация стрессора приводит к активации двух основных компонентов стрессовой системы и высвобождению ее конечных молекул-посредников. САМ ось секретирует норадреналин и норадреналин, а ось ГГН секретирует глюкокортикоиды. Как только эти оси активируются в ответ на данный стрессор, они будут генерировать скоординированный ответ, который начинается в течение нескольких секунд и может длиться в течение нескольких дней, обеспечивая

быстрые ответы, позволяющие практически сразу же использовать соответствующую стратегию и восстанавливать гомеостаз. Для этого реакция на стресс систематически способствует мобилизации энергии, метаболическим изменениям, активация иммунной системы и подавление пищеварительной и репродуктивной систем. В частности, в головном мозге стрессовая реакция вызывает краткосрочные и долгосрочные эффекты посредством негеномных, геномных и эпигенетических механизмов.



Рисунок 1 - Система стресса.

Эти центральные эффекты в сочетании с провоспалительной передачей сигналов приводят к изменениям клеточной возбудимости, а также активации синаптической и нейронной пластичности, в совокупности с эффектами тела опосредуют изменения в физиологии и поведении, которые обеспечивают адаптацию и выживание [49].

Традиционная точка зрения на механизмы, связывающие стресс и болезнь, сосредоточена на классических стрессовых системах — ГГН оси и САМ оси. Однако изменения осей ГГН и САМ в основном оказывают косвенное влияние на системы-мишени. Таким образом, механизмы связывают стресс со стресс-индуцированными заболеваниями все еще обсуждаются.

Существует консенсус в отношении того, что воздействие объективных стрессовых событий на людей определяется в некоторой степени их субъективным восприятием стрессового события, а именно воспринимаемым стрессом. Воспринимаемый стресс относится к оценке людьми стрессового события и их способности справиться с ним [50]. События воспринимаются как стрессовые только тогда, когда требования, предъявляемые событием, превышают способности человека справиться и наличие у организма доступных ресурсов [50, 51].

Социальный стресс, такой как запугивание, жестокое обращение или уход за неизлечимо больным близким человеком, является наиболее распространенным типом стресса, с которым люди сталкиваются в своей жизни [52]. И личное восприятие социального стрессора позволяет прогнозировать, разовьется ли у человека депрессия, симптомы психического расстройства [53]. Кроме того, пациенты, страдающие депрессивным эпизодом или находящиеся в стадии ремиссии депрессии, проявляют повышенную чувствительность к социальным стрессорам, встречающимся в повседневной жизни, что указывает на сильный характер этого стрессора [54]. Социальный стресс и депрессия могут затронуть любого, независимо от возраста, пола, этнической принадлежности или социально-экономического положения; однако восприимчивой является лишь часть населения. Феномен, при котором воздействие стресса приводит к психосоциальным расстройствам у одного человека, в то время как другой остается устойчивым, хорошо известен, однако механизмы, определяющие эти индивидуальные различия, недостаточно понятны. Одним из факторов, связанных с восприимчивостью и устойчивостью, является индивидуальный стиль преодоления стресса. У людей использование пассивных копинг-стратегий, таких как избегание, уход в себя и поиск чрезмерного заверения/негативной обратной связи, коррелирует с большей предрасположенностью к развитию депрессии [55, 56]; в то время как активное преодоление трудностей, такое как решение проблем, поиск поддержки и участие в адаптивных процессах, связано с устойчивостью [56]. Кроме того, было показано, что пациенты, которые с большей готовностью применяют пассивные стратегии выживания, не только более подвержены развитию депрессии, но также демонстрируют большее стимулированное липополисахаридом высвобождение интерлейкина-6 (ИЛ) из образцов цельной крови по сравнению с пациентами, которые чаще используют активные

стратегии выживания [57]. Таким образом, поскольку различные стратегии выживания приводят к уникальным воспалительным реакциям, преодоление может быть связано с физиологическими последствиями, связанными со стрессом, и может способствовать развитию сопутствующих заболеваний.

Категориальные системы классификации психических заболеваний [58], такие как Диагностическое и статистическое руководство по психическим расстройствам (DSM-V), так и Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10, МКБ-11) [59, 60], различают группу расстройств психической сферы, связанные с воздействием стресса. Эти, одновременно существующие категориальные системы классификации заболеваний, производят сопоставление заболеваний для содружественной работы врачей психиатрического профиля и специалистами других медицинских направлений. Однако медицинское сообщество стремится к унификации имеющихся диагнозов в DSM-IV – DSM-V и действующей МКБ.

МКБ-10 выделяет группу заболеваний в разделе F4 – невротические, связанные со стрессом и соматоформные расстройства, закодированную в подразделе F43, причинность которых усматривается в стрессе, в то время как DSM-V выделяет заболевания, выходящие за рамки этого раздела, но все так же связанные с воздействием стресса. Кодирование данных заболеваний имеет иную составляющую, что приводит к бинарной системе установки диагноза, как представлено в таблице 1.

Таблица 1 – сравнение кодов раздела реакций, связанных со стрессом, согласно МКБ-10 и DSM-V

Код МКБ-10	Диагноз	Код DSM-V
F43.0	Острая реакция на стресс	308.3
F43.1	Посттравматическое стрессовое расстройство	309.81
F43.2	Расстройства адаптации	
	.20 кратковременная депрессивная реакция	309.9
	.21 пролонгированная депрессивная реакция	309.0
	.22 смешанная тревожная и депрессивная реакция	309.24
	.23 с преобладанием нарушения других эмоций	309.28
	.24 с преобладанием нарушения поведения	309.3
	.25 смешанное расстройство эмоций и поведения	309.4
	.28 другие специфические преобладающие симптомы	Отсутствует
F43.8	Другие реакции на тяжелый стресс	309.89 (отдельная рубрика)
F43.9	Реакция на тяжелый стресс, неуточненная	309.9 (отдельная рубрика)
F94.1	Реактивное расстройство привязанности	313.89
F94.2	Расторможенное расстройство социальной активности	313.89

Согласно МКБ-10, использующейся в настоящий момент, группа F43 (Реакция на тяжелый стресс и нарушения адаптации) включает расстройства, связанные как с острым, так и с продолжительным воздействием стресса [59].

Наибольший интерес вызывает раздел F43.2 Расстройство адаптации – состояния, при которых развивается дезадаптация при воздействии пролонгированного стресса умеренной силы.

Согласно DSM-V, состояния, выделенные в раздел расстройств адаптации, включают в себя указанные ниже синдромы с описанной симптоматикой не имеют собственного кода и не в полном объеме соответствуют рубрикам МКБ-10, либо представлены в другом разделе. Расстройства адаптации, которые развиваются, как правило, при воздействии длительного хронического разнообразного, в том числе и психосоциального стресса, представлены в DSM-V следующим образом [59, 61]:

309.0 (F43.21) С депрессивным настроением: Плохое настроение, плаксивость или чувство безнадежности являются преобладающими;

309.24 (F43.22) С тревогой: нервозность, беспокойство, нервозность или тревога разлуки является преобладающим;

309.28 (F43.23) Со смешанной тревогой и депрессивным настроением: сочетание депрессии и преобладанием тревоги;

309.3 (F43.24) С нарушением поведения: преобладает нарушение поведения;

309.4 (F43.25) Со смешанными расстройствами эмоций и поведения: преобладают симптомы, как например, депрессии, тревоги и нарушение поведения;

309.9 (F43.20) Неуточненное: для дезадаптационных реакций, которые не классифицируются как реакции конкретных подтипов расстройства адаптации.

Состояния субъективного дистресса и эмоционального расстройства, обычно препятствуют социальному функционированию и продуктивности и возникают в период адаптации к значительному изменению в жизни или стрессовому жизненному событию (включая наличие или возможность серьезной физической болезни). Стрессовый фактор может поражать интегральность социальной сети больного (потеря близких, переживание разлуки), более широкую систему социальной поддержки и социальных ценностей (миграция, положение беженца). Стрессор (стресс-фактор) может затрагивать собственно личность или также его микросоциальное окружение [61].

МКБ-11 была представлена на 144-м заседании Исполнительного совета в январе 2019 года и утверждена в рамках 72 сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения в мае 2019 года. Переход на новый классификатор МКБ-11 рекомендован ВОЗ с 1 января 2022 года, переходный период продлён до 2027 года [62]. МКБ-11 направлена на унификацию работы специалистов и, на сегодняшний момент, вызывает много споров по распределению и признанию различных групп нозологий, в том числе психиатрического спектра. Однако, явным преимуществом данной классификации является выделение психических

и поведенческих расстройств, связанных с воздействием стресса, в отдельную категорию.

За период функционирования МКБ-10 было накоплено значительное количество знаний, проведены многочисленные исследования, учтенные в новой редакции МКБ. Понимание дезадапционного синдрома приобрело не только поведенческий характер, но и получило патофизиологическую основу связи стрессовых событий с формированием индивидуализированных поведенческих расстройств через призму биохимических, патоморфологических, физиологических изменений в организме индивидуума. В контексте новой классификации МКБ-11 расстройства адаптации утратили ореол «недозаболевания» и имеют значительно больше информации в вопросах этиологии, патогенеза и накопленных данных по заболеваемости и смертности в группе пациентов с установленным диагнозом из группы «06В4 Расстройства, непосредственно связанные со стрессом (*Disorders Specifically Associated with Stress*)», а в частности «6В43 Расстройства адаптации (*Adjustment Disorder*)».

Расстройства, конкретно связанные со стрессом, согласно МКБ-11, непосредственно связаны с воздействием стрессового или травматического события, серии таких событий или неблагоприятных переживаний. Для каждого расстройства в группе идентифицируемый стрессор является необходимым, хотя и недостаточным причинным фактором. У большинства людей, подвергающихся стрессу, расстройство не развивается. Стрессовые события при некоторых расстройствах в группе находятся в пределах нормы жизненного опыта (например, развод, социально-экономические проблемы, тяжелая утрата). Другие расстройства требуют воздействия стрессора, который носит чрезвычайно угрожающий или ужасающий характер (например, потенциально травмирующие события). При всех расстройствах в этой группе синдромы различаются характером и продолжительностью симптомов, возникающих в ответ на стрессовые события, вместе с сопутствующими функциональными нарушениями [62].

Расстройства, конкретно связанные со стрессом, включают следующие:

6В40 Посттравматическое стрессовое расстройство;

6В41 Комплексное посттравматическое стрессовое расстройство;

6В42 Продолжительное расстройство горя;

6В43 Расстройство адаптации;

6В44 Реактивное расстройство привязанности;

6В45 Расторможенное расстройство социальной активности;

6В4У Другие уточненные расстройства, конкретно связанные со стрессом.

Расстройство адаптации — это неадекватная реакция на идентифицируемый психосоциальный стрессор или множественные стрессоры (например, развод, болезнь или инвалидность, социально-экономические проблемы, конфликты дома или на работе), которые обычно проявляются в течение месяца после стрессора. Расстройство характеризуется озабоченностью стрессором или его последствиями, в том числе чрезмерным беспокойством, повторяющимися и тревожными мыслями о стрессоре или постоянными размышлениями о его последствиях, а также неспособностью адаптироваться к

стрессору, что вызывает значительные нарушения в личной, семейной жизни, социальные, образовательные, профессиональные или другие важные области функционирования. Симптомы нельзя лучше объяснить другим психическим расстройством (например, расстройством настроения, другим расстройством, специфически связанным со стрессом), и обычно они проходят в течение 6 месяцев [61, 62].

Неспособность адаптироваться к стрессору приводит к значительным нарушениям в личной, семейной, социальной, образовательной, профессиональной или других важных сферах жизнедеятельности. Если функционирование поддерживается, то только за счет значительных дополнительных усилий. Дополнительные психологические симптомы расстройства адаптации могут включать депрессивные или тревожные симптомы, а также импульсивные «экстернализирующие» симптомы, особенно повышенное употребление табака, алкоголя или других психоактивных веществ. Симптомы расстройств адаптации обычно ослабевают при устранении стрессора, при оказании достаточной поддержки или при выработке у пострадавшего дополнительных механизмов или стратегии выживания. Диагностика расстройств адаптации затруднительна и должна проводиться с учетом всех описанных критериев, в том числе исключаящих. Эмоциональные реакции на негативные жизненные события, не отвечающие этим требованиям, не следует диагностировать как расстройство адаптации. Симптомы, возникающие как преходящие реакции и исчезающие в течение нескольких дней, обычно не являются основанием для постановки диагноза расстройства адаптации. В случаях, когда реакции на травматические события считаются нормальными с учетом тяжести стрессора, может являться острой реакцией на стресс [61, 62].

Начало расстройства адаптации обычно происходит в течение месяца после воздействия стрессового жизненного события (т. е. болезни, бедственного положения в браке). Однако начало может произойти после более длительной задержки (например, через 3 месяца после воздействия). Интенсивность и продолжительность расстройства адаптации варьируются в широких пределах.

Острые и интенсивные стрессовые жизненные события (например, внезапная потеря работы) обычно приводят к соответственно резкому появлению симптомов, которые, как правило, имеют короткую продолжительность, тогда как более стойкие стрессовые жизненные события (например, непрекращающиеся семейные бедствия) обычно приводят к отсроченному появлению симптомов и более длительному течению.

У детей характерные симптомы озабоченности стрессором или его последствиями или постоянные размышления о стрессоре часто не выражаются напрямую, а скорее проявляются в соматических симптомах (например, боли в животе или головные боли), деструктивном или противодействующем поведении, гиперактивности, истериках, нарушении концентрации внимания, раздражительностью и повышенной навязчивостью. Другие реакции на стрессоры, включая регрессию, ночное недержание мочи и нарушения сна, могут

быть проявлением расстройства адаптации, если они сохраняются (присутствуют в течение примерно 1 месяца).

У подростков поведенческие проявления расстройства адаптации могут включать употребление психоактивных веществ и различные формы отыгрывания или рискованного поведения.

Поскольку дети и подростки могут не вербализировать явно связь между стрессовыми событиями и их собственными симптомами и поведением. При постановке диагноза важно учитывать временную связь между стрессором и появлением симптомов, а также степень, в которой они представляют собой изменение по сравнению с предыдущими симптомами и функционированием.

Среди пожилых людей озабоченность соматическими жалобами является распространенным признаком дистресса, связанного со стрессорами. Пожилые люди, страдающие расстройством адаптации, как правило, выражают большую тревогу по поводу своего здоровья, сообщают о значительной деморализации и часто демонстрируют стойкую соматизацию психологических симптомов.

Расстройство адаптации может усугубляться в условиях ограниченной поддержки со стороны семьи или сообщества, особенно в коллективистских или социоцентристских культурах. В этих обществах фокус озабоченности может распространяться на стрессоры, воздействующие на близких родственников или друзей.

Реакцию на менее серьезное событие или ситуацию, которая в других условиях соответствует требованиям к симптомам посттравматического стрессового расстройства, следует диагностировать как расстройство адаптации. Более того, у многих людей, которые пережили чрезвычайно угрожающее или ужасное событие, после него развивается расстройство адаптации, а не посттравматическое стрессовое расстройство. Различие следует проводить на основании того, соблюдаются ли полные диагностические требования для любого расстройства, а не только на основании типа стрессора.

Диагноз расстройства адаптации является распространенным. Оценки распространенности в течение жизни для взрослых варьируются от 5 до 36%. [63]. У взрослых женщин диагностируются в два раза чаще, чем у мужчин. Среди детей и подростков – девочек и мальчиков с одинаковой вероятностью могут быть диагностированы расстройства адаптации [61].

Суицидальное поведение характерно для людей с расстройством адаптации в любом возрасте, и до одной пятой подростков, ставших жертвами самоубийства, могут страдать расстройством адаптации. В исследованиях, проводимых в Японии, Тунисе, Европейских странах отмечается неуклонный рост суицидального поведения, связанного с расстройством адаптации, которое при этом реже чем при большом депрессивном расстройстве, однако склонно к повторным суицидальным попыткам с явной демонстрацией в поведении признаков асоциальности, анамнестических данных о семейных проблемах и социальных конфликтах. При этом суицидальные попытки при расстройстве адаптации чаще предполагают возможность спасения [64, 65, 66, 67, 68].

Стресс – это, как правило, событие серьезного, необычного характера, с которым сталкивается человек или группа людей [69]. Расстройства адаптации

могут быть вызваны широким спектром стрессовых факторов, которые могут быть травмирующими или относительно незначительными, такими как потеря девушки/друга, плохой табель успеваемости или переезд в новый район. Считается, что чем чаще возникает стрессор, тем больше вероятность того, что он вызовет расстройство адаптации. Объективная природа стрессора имеет второстепенное значение. Стрессор приобретает свой патогенный потенциал, когда пациент воспринимает его как стрессор. Идентификация причинного стрессора необходима, если необходимо поставить диагноз расстройства адаптации [70].

Существуют определенные стрессоры, которые чаще встречаются в разных возрастных группах: семейный конфликт, финансовый конфликт, проблемы со здоровьем у себя, партнера или детей-иждивенцев, личная трагедия, такая как смерть или личная потеря, потеря работы или нестабильные условия занятости, например, корпоративное поглощение или увольнение, развод родителей, школьные проблемы или смена школы, проблемы сексуальности, смерть, болезнь или травма в семье [71].

Основой диагноза является наличие провоцирующего стрессора и клиническая оценка возможности разрешения симптомов при устранении стрессора из-за ограничений критериев диагностики расстройства адаптации. Кроме того, диагноз расстройства адаптации менее ясен, когда пациенты подвергаются длительному воздействию стрессоров, поскольку этот тип воздействия связан с расстройством адаптации, большим депрессивным расстройством и генерализованным тревожным расстройством [69, 72]. Расстройства адаптации обладают способностью самоограничиваться. В течение пяти лет после постановки первоначального диагноза примерно у 20–50% пациентов диагностируют более серьезные психические расстройства [61].

В исследовании, которое проводилось в Польше во время первой фазы пандемии, использовались опросы самоотчетов для измерения распространенности и тяжести симптомов расстройства адаптации по сравнению с посттравматическим стрессовым расстройством, депрессией и тревогой. Данные были собраны в первый период карантина с 25 марта по 27 апреля 2020 г. [73]. Пандемия COVID-19 стала сильным стрессом для 75% участников и самым сильным предиктором расстройства адаптации. 49% сообщили об увеличении симптомов расстройства адаптации, которые чаще встречались среди женщин и тех, кто не работал полный рабочий день. 14% выборки соответствовали критериям диагноза расстройства адаптации. Значительная часть выборки также была положительной в отношении генерализованной тревоги (44%) и депрессии (26%): предположительный диагноз посттравматического стрессового расстройства составил 2,4% [73].

Таким образом, в структуре нозологических единиц влияние стресса выделяются состояния, непосредственно связанные со стрессом, приводящие к поведенческим расстройствам, согласно установленным классификациям. Однако, механизмы поведенческих расстройств, заболеваний в структуре развития которых усматривается стресс и механизмы запуска процессов патогенетических звеньев большинства стресс-опосредованных заболеваний по

настоящий день остаются не до конца изученными. Данные факты предполагают дальнейший поиск пусковых механизмов при стресс-индуцированных заболеваниях.

1.2 Хронический стресс в структуре факторов риска развития патологических процессов и поведенческих расстройств

Воздействие стресса зарекомендовало себя как важнейший фактор проблем со здоровьем, поскольку он вызывает множество изменений, приводящих в некоторых случаях к серьезным патологиям, таким как диабет [74], сердечно-сосудистая недостаточность [75, 76], рак [77] и депрессия [78]. Другие возникающие пагубные последствия стресса включают расстройства питания и нарушение регуляции массы тела [79]. В исследованиях на животных сообщалось, о значительном стресс-индуцированному снижению потребления пищи, если доступ к пище не предоставляется после периода стресса. Однако, в некоторых исследованиях сообщается, что у людей последствия психологического стресса более многогранны в возникновении таких проявлений [80]. В настоящее время общепризнано, что психологический стресс может приводить в организме к повышению уровня гормонов стресса (например, кортизола, адреналина), а также цитокинов (например, интерлейкина (IL)-1, IL-6, иммунного компонента фактора некроза опухоли (ФНО)- α) [81]. В зависимости от интенсивности и продолжительности стресса, это повышение уровня гормонов, цитокинов и других факторов его регуляции может сохраняться после прекращения стресса [82, 83, 84]. В свою очередь, психологический стресс способен вызывать множество других деструктивных клеточных событий на нейрональном уровне. Психологический стресс активирует выработку в мозге активных форм кислорода (АФК) [85]. В число синтезируемых АФК входят супероксид ($O^{-2}O^{2-}$), перекись водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал (-ОН). Накопление АФК происходит по причине дисбаланса между активностью генерации и удаления АФК в клетке [81, 86, 87]. Чтобы противодействовать этим негативным эффектам, клеточный механизм обладает высокоэффективными стратегиями удаления АФК в том числе и в митохондриях, содержащих высокие уровни супероксиддисмутазы, участвующей в превращении токсического супероксида—либо в O_2 , либо в H_2O_2 [81, 87, 88].

Активация каталазы, диссоциирует перекись водорода на диоксигород O_2 и воду H_2O , чтобы уничтожить ее токсическое действие. Другие клеточные органеллы, такие как эндоплазматический ретикулум (ЭР), задействуют пути антиоксидантной защиты с участием глутатионредуктазы. В настоящее время признано, что токсичность окислительного стресса возникает, когда способности детоксикации недостаточны для смягчения вредного воздействия АФК, приводящей к клеточной дисфункции [89, 90]. Как предполагалось ранее, существует тесная связь между психологическим стрессом и возникновением окислительного стресса. Действительно, активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси при психологическом стрессе вызывает воспалительный окислительный стресс в головном мозге [91].

Хронический стресс приводит к снижению чувствительности системы отрицательной обратной связи, которая управляет ГГН. Утрата этой системы отрицательной обратной связи связана с повышенным уровнем циркулирующих глюкокортикоидов (ГК). Нарушение регуляции оси ГГН приводит к последующим физиологическим последствиям представленным на рисунке 2, увеличивая риск дисфункции иммунной системы, расстройств настроения, нарушений обмена веществ и сердечно-сосудистых заболеваний [92, 93].

Большое количество доказательств указывает на то, что стресс может активировать воспалительную реакцию в головном мозге, а также на периферии [94].

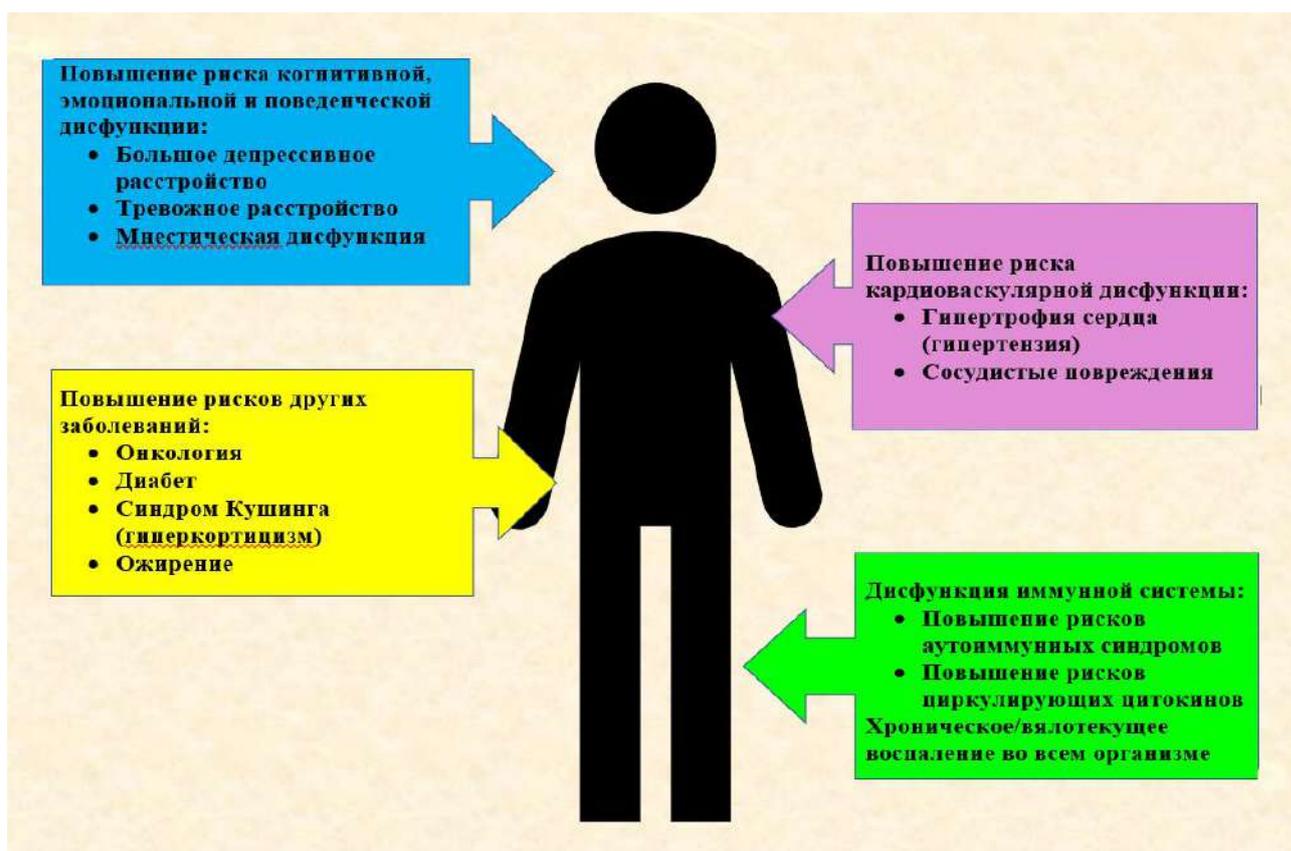


Рисунок 2 – Патофизиология хронического стресса

Между нейроэндокринной и иммунной системами существует связь [95]. Стресс активирует ось ГГН через гипоталамическую секрецию кортикотропин-рилизинг-гормона, который обычно подавляет иммунные реакции посредством высвобождения ГК из надпочечников. ГК являются одними из основных гормонов стресса, высвобождаемых во время стрессовой реакции, которые хорошо известны своими иммунодепрессивными и противовоспалительными свойствами. Исследования, проведенные в 1970-х и 1980-х годах, показали, что ГК ингибируют пролиферацию лимфоцитов и их цитотоксичность. Кроме того, ГК снижают экспрессию нескольких провоспалительных цитокинов (например, ФНО- α , ИЛ-6) и усиливают экспрессию противовоспалительных цитокинов (например, ИЛ-10, ФНО- β) [96, 97]. Однако недавние исследования доказали, что

ГК также оказывают провоспалительное влияние на иммунную систему [98]. Крысы с более высоким базальным уровнем кортикостерона в плазме имеют большее накопление ПГЕ 2, тогда как противовоспалительные факторы проявляются меньше после острого стресса [99]. ГК усиливают экспрессию и функцию инфламмосомы NLRP3, стимулируя секрецию ИЛ-1 β в ответ на АТФ. Инфламмосомы представляют собой цитоплазматические мультибелковые комплексы, которые воспринимают экзогенные и эндогенные сигналы опасности и расщепляют провоспалительные цитокины на зрелые цитокины, такие как ИЛ-1 β и ИЛ-18. Эта работа демонстрирует провоспалительную роль ГК, усиливая активацию врожденной иммунной системы в ответ на сигналы опасности [100]. Циркулирующие провоспалительные факторы, такие как ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α , непосредственно стимулируют гипофизарно-надпочечниковую ось, что приводит к повышению уровня адренокортикотропного гормона (АКТГ) и ГК в сыворотке крови, что, в свою очередь, ингибирует выработку этих провоспалительных факторов [101, 102, 103, 104]. Как новый и многообещающий биологический механизм было предложено воспаление. Накопленные литературные данные показали, что чрезмерное воспаление напрямую влияет на патофизиологию заболеваний, связанных со стрессом [105].

Взаимодействие иммунной системы и оси ГГН формирует эндокринные петли отрицательной обратной связи. Однако при чрезмерной стимуляции цитокинов при некоторых заболеваниях эти петли отрицательной обратной связи могут быть ослаблены за счет снижения уровня цитоплазматического рецептора (ЦР) и снижения экспрессии противовоспалительных генов, управляемых ЦР, что приводит к низкой чувствительности ЦР [106]. Помимо ГК, САМ ось и ее основной нейротрансмиттер, норадреналин (НА) и нейропептид Y, могут регулировать иммунную и воспалительную функцию. НА способствует секреции воспалительных факторов за счет увеличения фосфорилирования митоген-активируемых протеинкиназ через α -рецептор-зависимый путь, а нейропептид Y может вызывать трансформирующий фактор роста- β (ТФР- β) и продукцию ФНО- α в макрофагоподобной клеточной линии RAW264.7 через рецептор Y1 [107, 108, 109].

Как провоспалительные, так и противовоспалительные механизмы зависят от типа и интенсивности стрессоров. Острые стрессоры, по-видимому, усиливают иммунную функцию, тогда как хронические стрессоры подавляют ее. Интенсивные стрессоры чрезмерно активируют иммунную систему, что приводит к дисбалансу воспаления и противовоспалительного действия. Сообщения из различных лабораторий подтвердили провоспалительные процессы, вызванные стрессом, включая С-реактивный белок, ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-1 β и транскрипционный фактор «ядерный фактор каппа В (ЯФ-кВ)» [110].

В дополнение к периферическому воспалению, центральное воспаление, а именно нейровоспаление, также выявлено при стрессовых состояниях [111, 112]. Повышенные провоспалительные цитокины, повышенная активация микроглии и накопление моноцитов и макрофагов периферического происхождения были обнаружены в головном мозге при воздействии психологического стресса [113]. В качестве резидентных макрофагов головного мозга микроглия считалась

основным источником провоспалительных цитокинов. Потенциальная активация микроглии, вызванная стрессом, осуществляется как прямыми, так и косвенными механизмами. Микроглия экспрессирует как ГК, так и минералокортикоидные рецепторы, таким образом, микроглия, вероятно, будет иметь прямой ответ на пик кортикостерона [114]. Кроме того, рецепторы ГК также широко представлены в гиппокампе и префронтальной коре, поэтому стресс-индуцированный кортикостерон может оказывать косвенное влияние на микроглию. Помимо этого, недавние исследования показывают, что врожденная иммунная система ЦНС может реагировать на острый стрессор, тем самым высвобождая в мозге сигнал опасности с высокой подвижностью (HMGB-1), чтобы активировать микроглию, действуя на инфламмасому NLRP3, в процессе подготовки секреции ИЛ-1 β [115]. Активированная микроглия демонстрирует морфологию гипертрофических ветвей с увеличенной сомой и продуцирует увеличенное количество цитокинов для рекрутирования периферических моноцитов. Увеличение количества макрофагов в головном мозге и циркулирующих моноцитов способствует повышению уровня продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6) в головном мозге [116].

Как правило, сверхактивированная иммунная система, повышенная активность через пути симпатической нервной системы (СНС) и сниженная реактивность ГК могут работать в тандеме при активации воспалительных реакций во время стресса. ГКС, катехоламины, цитокины и другие медиаторы, высвобождаемые при стрессе, считаются основными медиаторами стресс-индуцированного провоспалительного эффекта.

Классически воспаление известно как решающий ответ на вторжение микробов или повреждение тканей для поддержания тканевого гомеостаза. В последние годы наши знания о роли воспаления значительно расширились. Воспалительный путь был признан ключевой молекулярной основой в патогенезе многих хронических заболеваний. На сегодняшний день все больше литературы показывает, что чрезмерное воспаление играет решающую роль в прогрессировании и/или возникновении заболеваний, связанных со стрессом. Появляется все больше доказательств того, что воспалительная реакция представляет собой «общую почву» для многофакторных заболеваний, включая сердечно-сосудистые и метаболические заболевания, психотические нейродегенеративные расстройства и рак [117].

Таким образом, нарушая баланс иммунной системы, стресс вызывает периферическое и центральное воспаление. Этот дисбаланс приводит к разнообразным заболеваниям, связанным со стрессом. Хотя могут быть различные триггерные события, они сходятся в воспалении. Имеются доказательства того, что стресс вызывает или усугубляет сердечно-сосудистые заболевания, неалкогольная жировая болезнь печени, депрессию, нейродегенеративные заболевания и рак посредством периферического воспаления, а также нейровоспаления. Стресс влияет на центральную микроглию и астроциты, кровеносные сосуды, иммунную систему и печень, в основном активируя СНС и ось ГГН. Предполагается, что воспаление может быть общим путем для заболеваний, связанных со стрессом, которые могут

действовать как фактор, способствующий прогрессированию заболевания, или могут возникать на очень ранних стадиях развития заболевания. Множество факторов, включая генетическую предрасположенность, старение и образ жизни, влияют на заболевания, связанные со стрессом, и что вызванное стрессом хроническое слабовыраженное воспаление является общей почвой для широкого спектра хронических заболеваний [118].

Все больше внимания уделяется взаимосвязи между сложностью и разнообразием микроорганизмов, населяющих наш кишечник (микробиота желудочно-кишечного тракта человека), и здоровьем/болезнью, включая здоровье мозга и расстройства функций ЦНС. Ось микробиота-кишечник-мозг представляет собой динамическую матрицу тканей и органов, включая мозг, железы, кишечник, иммунные клетки и микробиоту желудочно-кишечного тракта, которые взаимодействуют сложным разнонаправленным образом для поддержания гомеостаза. Изменения в этой среде могут привести к широкому спектру физиологических и поведенческих эффектов, включая активацию ГГН оси и изменение активности нейротрансмиттерной системы и иммунной функции. В то время как соответствующий, скоординированный физиологический ответ, такой как иммунный или стрессовый ответ, необходим для выживания, дисфункциональный ответ может быть вредным для хозяина, способствуя развитию ряда расстройств ЦНС [119].

В ответ на стрессовый стимул глюкокортикоиды легче проникают в мозг и опосредуют свои эффекты через высокоаффинные минералокортикоидные рецепторы и низкоаффинные глюкокортикоидные рецепторы: последний активируется при более высокой интенсивности стресса. Рецепторы, чувствительные к глюкокортикоидам, экспрессируются по всей ЦНС, в том числе в тех же самых областях мозга и нейронных цепях, участвующих в развитии опосредованного стрессом нейроэндокринного ответа, и, таким образом, существует ауторегуляторная петля обратной связи для предотвращения чрезмерной активации этого ответа. После устранения стрессора. Хроническое воздействие стресса и последующая выработка глюкокортикоидов приводят к различным неблагоприятным побочным эффектам, таким как остеопороз, диабет, гипертония, дислипидемия и даже нейродегенерация [120, 121]. Стресс также является одним из наиболее значительных факторов риска синдрома раздраженного кишечника [122, 123, 124]. С другой стороны, недостаточность или притупление оси ГГН обычно наблюдается в клинике при широком спектре аутоиммунных и воспалительных заболеваний. ГК также сильно влияют на фенотип, выживание и функции моноцитов, макрофагов и глиальных клеток, а их рецепторы повсеместно экспрессируются практически на всех типах иммунных клеток [125, 126].

Появляющиеся данные свидетельствуют о том, что новая нейроиммунная цепь, включающая активацию микроглии и измененный тонус симпатических нейронов в периферической иммунной системе, рекрутирует воспалительные моноциты в мозг [127] и еще больше усугубляет поведение, связанное со стрессом. Поступление этих моноцитов в мозг, по-видимому, регулируется ФНО- α -опосредованной активацией микроглии [128] и обратимо

пробиотическим вмешательством [129]. Действительно, ФНО- α -опосредованная активация микроглии определенных поведенческих фенотипов, вследствие длительной активации ГГН включает перенос моноцитов из селезенки, в ткани с высокой плотностью рецепторов FFAR2 [130, 131, 132]. Эти рецепторы FFAR2 представляют собой рецепторы, связанные с G-белком Gi/Go, и локализованы в лимфоцитах [133]. Было показано, что короткоцепочечные жирные кислоты (SCFAs), естественные лиганды для рецепторов свободных жирных кислот (FFAR), оказывают пагубное воздействие на плотность, морфологию и зрелость микроглии в отсутствие сложной микробиоты [134]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что микробиота желудочно-кишечного тракта может косвенно управлять центрально опосредованными событиями посредством регуляции транспорта моноцитов в мозг и последующей активации микроглии и активности оси ГГН, возможно, через механизмы, опосредованные короткоцепочечными жирными кислотами (SCFA).

1.3 Хронический стресс как фактор модификации биохимических процессов в организме

Хронический или повторяющийся стресс связан с перепроизводством активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота (АФА), крайне нестабильных молекул с неспаренными электронами, что приводит к окислительному стрессу и развитию СИР посредством различных биологических изменений [134, 135, 136]. Окислительный стресс вызывает прогрессирующее окислительное повреждение липидов, белков и ДНК в нейронах и нарушает синаптическую функцию. Нейроны особенно уязвимы для АФК, так как активность нейронов увеличивает использование кислорода для производства энергии. Активность нейронов тесно связана с метаболизмом головного мозга и обеспечивает правильный синтез нейротрансмиттеров, в первую очередь глутамата и γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) [137, 138, 139]. Поскольку проникновение нейроактивных соединений в мозг сильно ограничено гематоэнцефалическим барьером, значение роли метаболитов глюкозы для синтеза дополнительного количества нейротрансмиттеров повышается [138]. Мозг имеет высокие энергетические потребности, тогда как возбуждающая нейротрансмиссия отвечает за большую часть потребления энергии на корковом уровне. Удовлетворение в высокой потребности в энергии достигается за счет продукции АТФ в процессе метаболизма глюкозы и окислительного фосфорилирования в митохондриях [139, 140, 141]. Нарушение метаболизма глюкозы приводит к уменьшению продукции пирувата, что, в свою очередь, может приводить к мутациям митохондриальной ДНК (мтДНК), нарушениям функции митохондриальной дыхательной цепи, систем митохондриальной защиты и, следовательно, нарушению энергетического обмена, а также может приводить к нарушению нейропластичности и апоптозу [134]. Таким образом, в мозге при хроническом стрессе наблюдается дефицит метаболизма глюкозы, поэтому альтернативные источники энергии могут помочь предотвратить гибель клеток. Исследования показали, неспособность мозга эффективно

катаболизировать глюкозу, запускает в мозге процесс окисления аминокислот для производства энергии [142, 143].

В течение длительного периода времени действуют эффективные механизмы, влекущие за собой транскрипционную активацию генов и генных сетей, функционирующих для контроля метаболизма глюкозы. В этом контексте глюкоза может регулировать метаболические гены, модулируя активность ядерных факторов по отношению к их генам-мишеням [144]. Таким образом, молекулярная основа физиологической и патологической регуляции метаболизма глюкозы как потенциальных адаптивных ответов при митохондриальном повреждении может быть определена на уровне транскрипции. Из-за ограниченной проницаемости гематоэнцефалического барьера мозг, в значительной степени, зависит от переносчиков глюкозы для доставки основных питательных веществ. В головном мозге было идентифицировано несколько переносчиков глюкозы, из которых GLUT3, кодируемый *Slc2a3* имеет наибольшее значение, обеспечивая постоянное снабжение нейронов глюкозой, даже когда концентрация глюкозы в крови низка [145].

Учитывая высокие метаболические потребности и незначительные внутренние запасы энергии, мозг зависит от постоянного притока субстратов из крови. Глюкоза является основным энергетическим субстратом для большинства клеток, и ее транспортировка строго регулируется. Отмечено, что в гиппокампе крыс, подвергшихся хроническому стрессу, уровень матричной РНК (мРНК) *Slc2a3* был значительно повышен по сравнению с контрольной группой. Эти результаты согласуются с гипотезой о том, что сверхэкспрессия GLUT3 является результатом повышенной потребности клетки в глюкозе [146]. Хронический стресс повышает концентрацию переносчиков глюкозы в головном мозге, особенно в гиппокампе [147]. Повторяющиеся и непредсказуемые стрессовые ситуации увеличивают выработку АФК, которые могут повредить различные клеточные макромолекулы, в том числе те, которые составляют систему транспорта электронов, тем самым нарушая функцию митохондрий [135, 148]. Не исключено, что при хроническом стрессе мы можем наблюдать нарушение энергопродукции из-за повреждения митохондрий избытком АФК, что может активировать сигнальные пути, участвующие в адаптации клеток к различным видам стресса. Одним из таких путей является стимуляция поглощения глюкозы [148]. Увеличение экспрессии GLUT3, связанное с увеличением использования глюкозы мозгом, обеспечивает дополнительное подтверждение центральной роли GLUT3. Есть также предположения, что поглощение глюкозы играет роль в регулировании баланса между продукцией АФК и удалением, предполагая, что поглощение глюкозы должно строго контролироваться для поддержания гомеостаза клеточной энергии и окислительно-восстановительного статуса [148, 135].

Исследования *in vivo* показали, что острый стресс изменяет метаболизм аминокислот. В условиях хронического стресса основной целью катаболизма белка является обеспечение глюкогенными аминокислотами, которые служат субстратами для производства эндогенной глюкозы. Глюкогенные

аминокислоты, особенно аланин и глутамин, могут превращаться в глюкозу в ферментативном процессе глюконеогенеза. Путь глюконеогенеза обычно присутствует в печени, почках и кишечнике. Тем не менее, новые отчеты представляют доказательства того, что глюконеогенная активность может также проявляться в головном мозге, хотя исследования церебрального глюконеогенеза ограничены [149]. В гиперметаболическом/стрессовом состоянии глюконеогенез резко возрастает и пропорционально степени повреждения увеличивает поступление глюкозы (основного энергетического субстрата репарации). Глюкоза — единственный субстрат, который может быть использовано гипоксическими тканями (анаэробный гликолиз) [151]. Этот обнаруженный путь становится все более признанным важным альтернативным источником глюкозы для нейронов, особенно при патологических состояниях [149, 150]. Важную роль в качестве передатчиков синаптического возбуждения и модуляторов синаптической функции в ЦНС выполняют аминокислоты, одновременно выполняя роль предшественников для синтеза нейротрансмиттеров (нейроактивных аминокислот) [151, 152, 153].

Было показано, что уровни мРНК глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы сильно регулируются в различных типах клеток при определенных метаболических условиях [154, 155, 156]. Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа представляет собой фермент, играющий важную роль в энергетическом обмене. В процессе гликолиза глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа катализирует обратимое фосфорилирование глицеральдегид-3-фосфата в 1,3-бисфосфоглицерат с использованием НАД⁺ в качестве кофактора [157]. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) является ферментом, катализирующим последнюю стадию анаэробного метаболического пути, гликолиза. ЛДГ представляет собой тетрамерный фермент, состоящий из двух разных субъединиц А и В, кодируемых генами ЛДГ-А и ЛДГ-В соответственно. ЛДГ катализирует превращение пирувата в лактат с одновременным взаимопревращением НАД-Н в НАД⁺, а ЛДГ катализирует превращение лактата в пируват. Митохондриальный транскрипционный фактор А (МТФ) является основным мтДНК-связывающим белком, который упаковывает его в нуклеопротеиновые комплексы, называемые нуклеоидами [158]. Было показано, что МТФ регулирует транскрипцию посредством специфического связывания с промоторной областью и число копий мтДНК [158].

Наблюдалось значительное снижение уровня мРНК ГАДФ в гиппокампе крыс, подвергшихся хроническому стрессу, по сравнению с группой контроля. Однако, учитывая тот факт, что при стрессе возникает повышенная потребность в глюкозе, можно было бы ожидать усиления гликолиза. НАД⁺ необходим для включения шестого этапа гликолиза, и он обычно регенерируется посредством окислительного фосфорилирования в цепи переноса электронов. Когда поступление кислорода ограничено или функция митохондрий снижена из-за АФК, НАД⁺ регенерируется из НАД-Н с помощью ЛДГ-А для поддержания гликолиза с образованием лактата в качестве побочного продукта. Следует также подчеркнуть, что при воздействии АФК клетки нуждаются в избыточном количестве антиоксидантного кофактора НАДФ-Н, который восстанавливается

из НАДФ⁺. Таким образом, избыток АФК может вызвать инактивацию ГАДФ. Эта инактивация временно направляет метаболический поток от гликолиза к пентозофосфатному пути, позволяя клетке генерировать больше НАДФ-Н [159]. Следовательно, можно сделать вывод, что в окислительных условиях ГАДФ может действовать как переключатель, перенаправляющий метаболизм глюкозы на более подходящие защитные пути. Однако, постоянное ингибирование гликолиза и работа механизмов антиоксидантной защиты в итоге преодолевается постоянно увеличивающимся количеством АФК, генерируемых в головном мозге, что может сводить на нет возможность выживания клеток. Это указывало бы на апоптозную функцию ГАДФ, подтвержденную имеющимися данными [154, 155, 157, 160]. ГАДФ накапливается в митохондриях во время апоптоза и индуцирует проапоптоз, повышенную проницаемость митохондриальных мембран [161]. ГАДФ обладает весьма разнообразными негликолитическими функциями, такими как ядерная, перинуклеарная, цитозольная и связанная с мембраной [157]. Он влияет на высвобождение Ca²⁺ из митохондрий в цитозоль, тем самым индуцируя высвобождение нейротрансмиттеров [157, 162]. Снижение уровня мРНК ГАДФ в может свидетельствовать о задержке Ca²⁺ в митохондриях и, следовательно, снижать высвобождение нейротрансмиттера, что приводит к апоптозу. ГАДФ также может подвергаться множеству различных окислительных модификаций, что представляет большой интерес при рассмотрении нейродегенеративных заболеваний. Несколько параллельных исследований показали связь между ГАДФ и болезнями Альцгеймера и Паркинсона [161, 162]. Доказано, что снижение гликолитической активности ГАДФ, в дополнение к окислительным и посттрансляционным модификациям, являются отчетливыми маркерами клеточного стресса при патологии этих заболеваний, которые существенно влияют на внутриклеточный гомеостаз [154, 155, 157, 162]. Принимая во внимание функции и расположение ГАДФ внутри клетки, а также приведенные выше данные, можно сделать вывод, что аналогичные механизмы могут играть роль при поведенческих расстройствах и депрессии.

Способность мозга производить и использовать лактат может регулироваться изменениями активности генов ЛДГ-А и ЛДГ-В, что позволяет мозгу оптимизировать использование энергии и метаболизма. Было показано, что в гиппокампе крыс, подвергшихся хроническому стрессу, уровни мРНК *Ldha* (отвечает за превращение пирувата в лактат) оставались неизменными, но уровни *Ldhb* (обратная реакция) были значительно снижены. Лактат является субстратом для митохондриального цикла трикарбоновых кислот через пируват, и его окисление может производить значительное количество АТФ [163]. В условиях стресса биотрансформация глюкозы через глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу нарушена, и, если мозг находится в состоянии длительного стресса, нейроны с большей вероятностью будут зависеть от лактата, который представляет собой альтернативный источник энергии. Физиологическое значение снижения уровня мРНК *Ldhb* при хроническом стрессе может заключаться в оптимизации использования лактата для производства энергии. Эти результаты предоставляют данные об относительном вкладе лактата, в

качестве энергетического субстрата в условиях хронического стресса. Этот факт также предполагает наличие связи с отношением НАД⁺/НАД-Н и с избытком АФК. Поскольку ЛДГ-В использует НАД⁺, также необходимый для регенерации НАД-Н, наблюдаемый эффект может являться защитным механизмом, обеспечивающим перепроизводство НАД-Н в ответ на окислительный стресс. Существует гипотеза, что ЛДГ играет роль в контроле внутриклеточного редокс-статуса. Согласно этой гипотезе, увеличение митохондриальных АФК вызывает митохондриальную дисфункцию в головном мозге и приводит к метаболическому сдвигу от аэробного дыхания к гликолитическому метаболизму, что приводит к резкому повышению уровня лактата в мозге и к изменениям экспрессии генов ЛДГ. С другой стороны, было показано, что серотониновые системы участвуют в контроле доставки, транспорта и поглощения глюкозы в головном мозге [164]. Метаболизм глюкозы в головном мозге также может нарушаться при подавлении этих систем, что может быть следствием снижения уровня мРНК ГАДФ и возникать вследствие ослабления гликолиза [165].

Транскрипционный фактор А митохондрий (МТФ) является ключевым регулятором поддержания и распределения митохондриальной ДНК (мтДНК). Он очень чувствителен к повреждению, вызванному АФК, из-за его непосредственной близости к генерации АФК через дыхательную цепь и недостатка защитных гистонов. Кроме того, в митохондриях мало возможностей для репарации ДНК. В исследовании М. Herbet и соавторов выявлено достоверное повышение уровня мРНК МТФ гиппокампе крыс, подвергшихся СВС, по сравнению с контролем [135]. Исследования показывают, что МТФ преимущественно связывается с поврежденной окислительными процессами ДНК, содержащей 8-оксогуанин (8-оксо-Гуа), что является одним из наиболее частых изменений ДНК, вызванных воздействием АФК. Ранее было показано значительное увеличение накопления AP-сайтов в изолированной ДНК из гиппокампа крыс, подвергшихся хроническому стрессу, что свидетельствует об увеличении окислительного повреждения ДНК [136]. В то же время была отмечена активация *Ogg1* (ген кодирующий фермент, ответственный за вырезание 8-оксогуанина) как повышение эффективности репарации ДНК. Таким образом, можно предположить, что исследование Herbet и соавторов, согласуется с более ранними результатами, поскольку оно может указывать на вклад МТФ А в окислительное повреждение посредством ее связывания с *Ogg1*. Считается, что благодаря регуляции МТФ А поддержание количества копий и экспрессии мтДНК необходимо для сохранения митохондриальной функции [166, 167]. Было высказано предположение, что мтДНК и МТФ А стабилизируют друг друга [168]. Поскольку избыток АФК снижает количество мтДНК, повышенный уровень МТФ А может повышать устойчивые уровни мтДНК в ответ на окислительный стресс. Соответственно, можно предположить, что сверхэкспрессия МТФ А может предотвратить снижение мтДНК, что важно для поддержания клеточных функций в условиях хронического стресса. Кроме того, сверхэкспрессия МТФ А может объяснить необходимость повышенной митохондриальной активности. Активация *Slc2a3*, но подавление ГАДФ и ЛДГ-

В, указывают на снижение гликолиза с увеличением потребности в глюкозе. Следовательно, нарушение метаболизма глюкозы может быть прямой детерминантой синаптической дисфункции, в то время как митохондриальные изменения и последующая гибель клеток, по-видимому, связаны с атрофией гиппокампа и префронтальной коры, наблюдаемой у пациентов с депрессией [137, 164, 169, 170].

В различных исследованиях наблюдалось статистически значимое снижение уровня всех исследованных аминокислот в мозге крыс, подвергшихся хроническому стрессу. При стрессовом воздействии нарушается выработка митохондриальной АТФ. В этих условиях гликолиз становится основным источником энергии, увеличивая выработку лактата. Однако, ни митохондриальное окислительное фосфорилирование, ни анаэробный гликолиз сами по себе не могут производить АТФ со скоростью, достаточной для поддержания функции мозга. Как описано выше, глюкоза направляется в сторону пентозофосфатного пути, что приводит к высокому антиоксидантному статусу за счет производства энергии. При непредвиденных обстоятельствах высокой потребности в энергии, глюкогенные аминокислоты могут быть источником производства энергии в глюконеогенезе [149]. Астроциты компетентны в глюконеогенезе, выполняя функцию потенциального энергетического пула для нейронов, активируемых во время стресса [171]. Пониженный уровень аминокислот может подтвердить механизм, посредством которого в головном мозге происходит глюконеогенез для удовлетворения энергетических потребностей этого органа. В то же время, указанные выше изменения могут обеспечивать способность стимулировать этот путь в условиях хронического стресса.

Стоит отметить, что одним из стрессоров, используемых в методике хронического стресса у грызунов, является лишение воды и пищи. Нехватка пищи и воды может повлиять на метаболические пути в головном мозге. У млекопитающих концентрация продуктов метаболизма в плазме, связанная с энергетическим балансом, изменяется по хорошо установленной динамике в зависимости от того, сыт ли организм или голодает [172]. Мозг участвует в глюконеогенезе, чтобы преобразовать глюкогенные аминокислоты в глюкозу для метаболизма. Запасы гликогена в организме расходуются примерно за 24 часа [173]. Если мы не говорим о случае длительного голодания, энергетические потребности мозга частично покрываются за счет метаболизма кетоновых тел [173]. Известно, что грызуны физиологически приспособлены к острому лишению пищи и воды в течение 24 часов без явных признаков физиологического дистресса или поведенческих аномалий [173]. Поэтому предполагается, что кратковременная депривация воды и пищи (24 ч) не оказывает существенного влияния на энергетический обмен мозга крыс в силу адаптационных свойств. Таким образом, можно рассматривать лишение воды и пищи как подходящие факторы стресса, особенно то, что пациенты, страдающие депрессией, связанной со стрессом, демонстрируют одновременное расстройство пищевого поведения – они потребляют чрезмерное количество пищи или используют голодание как средство справиться с кажущимся

невыносимым чувством депрессии. Однако неясно, могут ли эти данные быть напрямую связаны с людьми. Неизвестно, приводит ли кратковременное голодание продолжительностью в несколько дней к снижению метаболизма глюкозы в головном мозге человека. У грызунов есть эндогенные ночные ритмы, которые делают их особенно адаптируемыми к ежедневным событиям, таким как доступ к пище или воде. Во время лишения воды у крыс увеличение осмоляльности плазмы составляет всего лишь примерно 2% через 24 часа; соответствующее уменьшение объема плазмы составляет примерно 4% и может быть меньше, чем у людей [174, 175]. Человеческий мозг адаптируется к изменениям в энергоснабжении уже через 3 дня после начала голодания, когда на кетонные тела приходится примерно четверть потребности мозга в энергии [173].

Ряд предположений относительно молекулярного механизма нейродегенерации включает нейроактивные аминокислоты [149]. Аспартат и глутамат являются основными возбуждающими нейротрансмиттерами в головном мозге, тогда как глицин, таурин и γ -аминомасляная кислота являются ингибирующими. Таурин также играет защитную роль в мозге. Кроме того, глутамин является молекулой-предшественником глутатиона, который защищает от токсичности АФК [149]. Аминокислоты, такие как триптофан, тирозин, гистидин и аргинин, используются мозгом для синтеза различных нейротрансмиттеров и нейромодуляторов [153].

Аномальный метаболизм нейроактивных аминокислот был продемонстрирован в плазме крови пациентов с большой депрессией, а также в образцах мозга крыс в модели депрессии [176, 177, 178]. Отмечалось, что тирозин, глутамин и пролин значительно снижались, в то время как глицин повышался в мозжечке крыс с депрессией [176]. Снижение уровня нейроактивных аминокислот, наблюдаемое в исследовании, может быть результатом тесной связи между активностью мозга, нейротрансмиссией, потребностью в энергии и использованием глюкозы. Во время активации поглощение глутамата астроцитами приводит к повышенному использованию глюкозы и выработке лактата, поэтому впоследствии он может использоваться нейронами для удовлетворения своих энергетических потребностей [171]. Глутамат и аспартат, основные возбуждающие нейротрансмиттеры в головном мозге, не проникают через гематоэнцефалический барьер и синтезируются из глюкозы. Таким образом, наблюдаемое снижение их уровня служит дополнительным подтверждением гипотезы о перенаправлении метаболизма глюкозы на защитные пути в условиях хронического стресса. Изменения концентрации нейроактивных аминокислот также могут быть следствием дисбаланса между возбуждением и торможением, а также изменениями ионных каналов при стрессе. Рецепторы NMDA обладают высокой проницаемостью для ионов кальция, которые проникают в клетки через каналы рецепторов NMDA, что приводит к повреждению митохондрий. Недавние исследования указывают на нарушение или снижение глутаматергической нейротрансмиссии при неврологических заболеваниях, сопровождающихся гипофункцией NMDA [179].

Изменения в экспрессии генов и уровне аминокислот подтверждают, что энергетический метаболизм мозга включает сложные клеточные и молекулярные механизмы, которые необходимы для удовлетворения повышенных энергетических потребностей мозга во время депрессии, связанной со стрессом. Изменения указывают на поддержку энергетического обмена путем стимуляции пути глюконеогенеза и перенаправления метаболизма глюкозы на соответствующие защитные пути в условиях хронического стресса. Гиперэкспрессия МТФ может подтвердить окислительное повреждение ДНК и в то же время может указывать на повышенную способность поддерживать митохондриальную функцию как на потенциальную адаптивную реакцию. Предполагается, что эти изменения связаны с различными сигнальными механизмами, которые должны контролироваться клеткой, чтобы избежать окислительного стресса. Эти данные дают новое представление о биохимических и молекулярных событиях, которые приводят к развитию депрессии в условиях хронического стресса, и они могут определить новые цели для терапевтического вмешательства [135].

Поскольку свободные радикалы очень реакционноспособны и недолговечны, их обнаружение является сложной задачей. Обнаружение более стабильных продуктов, образующихся в результате реакций со свободными радикалами, таких как окислительные модификации белков, дает более убедительные данные и часто приводит к более качественным количественным данным.

Выявляется возрастное повышение уровня окислительно модифицированных белков и многие заболевания имеют окислительную этиологию, следовательно, можно предположить, что белки также накапливают признаки окислительного повреждения в связи с болезнью, хотя некоторые из них являются только ассоциациями, и окисление не всегда является причинным, а способствующим фактором. Для работы в качестве подходящих биомаркеров крайне важно, чтобы продукты окисления белков были стабильными, накапливались в поддающихся обнаружению концентрациях и коррелировали с тяжестью заболевания. Доступность образца — еще один важный фактор, ограничивающий надежность биомаркера. Продукты окисления белков можно определять в образцах крови и мочи, а также в образцах конкретных тканей или клеток.

Многочисленные исследования показали, что процессы окисления и гликирования являются ключевыми причинными факторами связанных со старением, хроническими заболеваниями и дегенеративными заболеваниями нейронов [180, 181, 182, 183]. Эти процессы неизбежно производят различные токсичные промежуточные соединения, в основном ненасыщенные карбонилы, такие как малоновый диальдегид (МДА) и формальдегид, которые обычно вызывают поперечное сшивание карбонила и амина и, в конечном итоге, приводят к накоплению необратимых патологических изменений (таких как липофусцин). в ЦНС [184, 185, 186, 187]. Токсичность таких ненасыщенных карбониллов считается важной причиной связанных со старением биохимических изменений в организме животных и человека, включая дегенерацию головного

мозга [188, 189, 190]. Было обнаружено, что уровни токсичных карбониллов не только связаны со старением и болезнями, но и в значительной степени увеличиваются после повседневной деятельности, особенно после интенсивных упражнений или лишения сна [185, 191].

Ненасыщенные карбонилы, такие как МДА, будучи менее активными, чем свободные радикалы, часто имеют относительно более длительный период полураспада и, таким образом, могут диффундировать из мест образования в другие места *in vivo*, вызывая дальнейшие окислительные/карбонильные стрессы. МДА, как один из наиболее важных промежуточных продуктов повреждения свободными радикалами [185, 192], может легко и широко связывать или сшивать важные биологические макромолекулы, такие как белки и нуклеиновые кислоты [185, 193]. Такие реакции, связанные с карбонильным стрессом, или просто карбонилирование, могут образовывать нестабильные 1:1 аминокарбонильные соединения на ранней стадии и позже формировать универсальный стабилизированный белковый комплекс [185, 187]. Хотя карбонилирование на ранней стадии может быть активно обращено несколькими системами биологической защиты, процесс накопления аминокарбонильной реакции продолжается после повседневной активности или стрессов [194, 195]. Поэтому исследования влияния карбонилирования на церебральную супрессию и его связь с дегенерацией мозга в отношении нейронных функций представляют большой интерес и важность [196].

Новые и наиболее важные данные заключаются в том, что пациенты, не пережившие черепно-мозговую травму, показали более высокие уровни малонового диальдегида в сыворотке в течение первой недели черепно-мозговой травмы, чем выжившие, и что эти уровни в течение первой недели черепно-мозговой травмы можно использовать в качестве биомаркеров смертности [197].

Малоновый диальдегид представляет собой высокореакционное органическое соединение, встречающееся в виде енола [198]. МДА образуется естественным образом в результате перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот и является маркером окислительного стресса [198]. Это важный продукт синтеза тромбоксана А₂, где циклооксигеназа 1 или циклооксигеназа 2 метаболизирует арахидоновую кислоту в простагландин Н₂ тромбоцитами и широким спектром других типов клеток и тканей. Этот продукт далее метаболизируется тромбоксансинтазой до тромбоксана А₂, 12-гидроксигептадекатриеновой кислоты и малонового диальдегида [199, 200]. В качестве альтернативы он может неферментативно перегруппировываться в смесь 8-цис- и 8-транс-изомеров 12-гидроксиэйкозагептаеновой кислоты плюс малонового диальдегида [201]. Степень перекисного окисления липидов можно оценить по количеству малонового диальдегида в тканях [198].

Активные формы кислорода разлагают полиненасыщенные липиды с образованием малонового диальдегида. Это соединение представляет собой реактивный альдегид и является одним из многих реактивных видов электрофилов, которые вызывают токсический стресс в клетках и образуют ковалентные белковые аддукты, называемые конечными продуктами расширенной липоксидации, по аналогии с конечными продуктами

расширенного гликирования. Производство этого альдегида используется в качестве биомаркера для измерения уровня окислительного стресса в организме [198, 202].

Малоновый диальдегид реагирует с дезоксиаденозином и дезоксигуанозином в ДНК, образуя аддукты ДНК, первичным из которых является M1G, который является мутагенным [203]. Гуанидиновая группа остатков аргинина конденсируется с малоновым диальдегидом с образованием 2-аминопиримидинов. Альдегиддегидрогеназа ALDH1A1 человека способна окислять малоновый диальдегид.

Карбонилирование белков определяется как ковалентная необратимая модификация боковых цепей остатков цистеина, гистидина и лизина конечными продуктами перекисного окисления липидов, такими как 4-гидрокси, 4-оксононеналь и т. д., что приводит к формированию карбонильных производных [204]. Кислородные радикалы считаются важной причиной окислительной модификации белков, которая может привести к их быстрой деградации. Среди окислительных модификаций аминокислот в белках образование карбонила может быть ранним маркером окисления белка. Этот тип изменений характеризуется катализируемым металлами окислением белков. Катионы с окислительно-восстановительным циклом, такие как Fe^{2+} или Cu^{2+} , могут связываться с местами связывания катионов на белках и с помощью дополнительной атаки H_2O_2 или O_2 могут превращать аминокислоты боковой цепи некоторых аминокислот в карбонилы. Катализируемое металлами окисление белков не обязательно является единственным механизмом введения карбонил в белки. Повышение уровня карбонила исследуется при таких заболеваниях, таких как ревматоидный артрит, ишемически-реперфузионное повреждение сердечной мышцы и повреждение мышц, вызванное изнурительной физической нагрузкой [204, 205].

Наиболее частый тип модификации белка, вызванной АФК, считается необратимым и направлено на то, чтобы вызвать деградацию белка [206]. Двумя наиболее реактивными продуктами перекисного окисления липидов, участвующими в карбонилировании белков, являются 4-гидроксиноненаль и транс-4-оксо-2-ноненаль. Эти альдегиды могут диффундировать из мембраны в цитоплазму и ядро и реагировать с различными белками, а также с нуклеиновыми кислотами. В случае белков 4-гидроксиноненаль и транс-4-оксо-2-ноненаль могут быть ковалентно связаны с остатками цистеина, гистидина или лизина в процессе, который обычно называют вторичным карбонилированием белка, что в большинстве случаев приводит к потере функции белка [206].

Одним из наиболее изученных липидных метаболитов, образующихся в результате перекисного окисления липидов, является 4-гидрокси- транс -2,3-ноненаль, который обладает значительной способностью реагировать с белками, образуя аддукты во время нуклеофильной атаки на специфические аминокислотные остатки.

Эти модификации белков могут привести к внутримолекулярным и межмолекулярным белковым поперечным связям. Большинство мишеней карбонилирования приводят к уменьшению или потере функции белка.

Карбонилирование белков с помощью 4-гидроксиноненаль может приводить к широкому спектру ингибирующих биологических эффектов, включая инактивацию мембранных переносчиков, резистентность к инсулину, нарушение регуляции сниженного уровня никотинамидадениндинуклеотидфосфата и изменение передачи сигналов стресса [207].

С другой стороны, сообщалось о роли 4-гидроксиноненаль-индуцированного карбонилирования в активации оси Keap1-Nrf2-ARE, ключевого регулятора реакций, опосредованных окислительным стрессом [208]. Карбонилирование специфических остатков цистеина в структуре Keap1 (Cys273 и Cys288) приводит к высвобождению Nrf2 и его перемещению в ядро, а карбонилированный Keap1 расщепляется протеасомной системой [209].

Немаловажное значение в развитии патологических процессов в сосудах малого диаметра имеют физические свойства эритроцитов, которые также являются объектом пристального внимания исследователей.

Мембраносвязанный гемоглобин, имеет обратимый и необратимый характер связывания как с белками цитоскелета, так и с мембраной эритроцита. МСГ участвует в процессах обмена углеводов, структурной целостности мембран и высвобождении сигнальной АТФ. Обратимое связывание гемоглобина является физиологичным и определяет течение метаболических процессов в эритроцитах. В свою очередь, необратимое связывание гемоглобина с мембраной запускает процессы нарушения липидного обмена, запуск сигнальной системы старения, индукцию перекисного окисления липидов, активацию воспалительного ответа [210]. Изучается влияние МСГ на капиллярный кровоток, путем изменения деформабельности эритроцитов, что может нести как положительный, так и повреждающий характер. Уровень связанного с мембранами гемоглобина предлагают применять в качестве дополнительного критерия оценки функционального состояния эритроцитов при хронической эндогенной интоксикации [211].

Мембрана эритроцита состоит из двух основных компонентов: липидного двойного слоя, пересекаемого трансмембранными белками, и поддерживающей цитоскелетной сети. Как правило, мембрану эритроцита моделируют как однородный материал толщиной около 7,5 нм. Иногда мембрану рассматривают как двух- или трехслойную сборку [212]. Эти приближения используются просто потому, что учесть все сложные детали строения мембран практически невозможно. Однако, учитывая относительно небольшую толщину и большую площадь мембраны, такие приближения можно считать приемлемыми. Электропроводность мембраны очень низкая, и она служит изолятором. Диэлектрические свойства мембраны требуют тщательного изучения в будущем [212].

Считалось, что во время внутриутробного развития механизмы антиоксидантной защиты менее активны, чем у зрелого новорожденного или взрослого, что позже не было подтверждено [212]. Было постулировано, что повреждение, вызванное кислородными радикалами, является основным фактором таких патологических состояний, как бронхолегочная дисплазия,

ретинопатия недоношенных и повышенная восприимчивость к гемолизу как у недоношенных, так и у доношенных детей. Исследования потенциала антиоксидантной защиты эритроцитов человека выявили пониженные уровни глутатионпероксидазы и витамина Е у недоношенных и доношенных групп по сравнению со взрослыми. Такой сниженный антиоксидантный потенциал вполне может привести к образованию свободных радикалов кислорода с сопутствующим окислительным повреждением клетки. Сообщалось также, что гемоглобин сам по себе может катализировать образование гидроксильного радикала по типу реакции Фентона [213]. Реакция Фентона имеет различные последствия в биологии, поскольку она включает образование свободных радикалов химическими веществами, естественно присутствующими в клетке в условиях *in vivo* [213]. Ионы переходных металлов, такие как железо и медь, могут отдавать или принимать свободные электроны посредством внутриклеточных реакций и, таким образом, способствуют образованию или, наоборот, поглощению свободных радикалов. Супероксидные ионы и переходные металлы действуют синергически, вызывая повреждение свободными радикалами. Таким образом, хотя клиническое значение до сих пор неясно, это одна из веских причин избегать приема препаратов железа у пациентов с активными инфекциями, в то время как другие причины включают инфекции, активируемые железом [214].

Эритроциты можно разделить по возрасту на основе их относительной плотности. Было обнаружено, что мембраны эритроцитов, выделенные из старых клеток, содержат значительное количество МСГ, что объясняется постепенным процессом окислительного сшивания во время старения эритроцитов. Такое предположение подтверждается наблюдением, что *in vitro* инкубация эритроцитов с перекисью водорода приводит к перекрестному связыванию Hb с компонентами мембраны, что приводит к изменению ее свойств (П2); особый интерес представляет комплекс между гемоглобином и спектрином, основным компонентом скелетной системы мембран эритроцитов. Спектрин выполняет множество мембранных функций, включая регуляцию деформируемости мембраны (жизненно важное свойство эритроцита для его выживания *in vivo*) и стабильность. Кроме того, спектрин может также регулировать форму клеток и характеристики поверхности за счет своей способности присоединяться к липидному бислою и интегральному мембранному белку Band 3 (анионный канал). Сшивание гемоглобина со спектрином коррелирует с повышенной жесткостью мембран эритроцитов [215].

Мембраны эритроцитов новорожденных и взрослых различаются по ряду плохо определенных признаков; например, неонатальные мембраны содержат больше фосфолипидов и холестерина на клетку (и, как следствие, имеют большое отношение поверхности к объему), немного более осмотически устойчивы, более жесткие и механически хрупкие, а также имеют меньшую продолжительность жизни (в среднем 45–70 дней), чем взрослые эритроциты [216]. Хотя белковый состав неонатальных и взрослых клеток сходен, мало что известно об их организации в мембранной среде неонатальных клеток, и нет информации об индуцированном перекисью повреждении неонатальных клеток

in vivo или *in vitro*, а также о взаимодействиях гемоглобина с мембранами неонатальных эритроцитов. Поэтому изучалось взаимодействие гемоглобина с неонатальными и взрослыми клеточными мембранами *in vivo* и влияние перекиси водорода на состав неонатальных и взрослых клеточных мембранных белков *in vitro* на сравнительной основе. Электрофоретический анализ мембран проводили с восстановлением и без восстановления меркаптоэтанолом после пероксидной сшивки. Также исследовали возможность использования МСГ в качестве маркера окислительного повреждения мембран эритроцитов [217].

Нативные неонатальные мембраны эритроцитов содержат более высокие уровни мембраносвязанного гемоглобина, чем мембраны взрослых эритроцитов. Содержание МСГ увеличивается, когда эритроциты инкубируют с возрастающими концентрациями перекиси водорода (H_2O_2), в большей степени у новорожденных, чем у взрослых эритроцитов; однако мембранные белки эритроцитов новорожденных менее подвержены окислению H_2O_2 , чем белки взрослых. Это может быть связано с тем, что гемоглобин F более подвержен окислению, чем гемоглобин A, который повышает восстановительный потенциал неонатальных эритроцитов (где он присутствует в больших количествах) и частично защищает неонатальные мембранные белки от окислительного стресса по сравнению с гемоглобином A во взрослых эритроцитах. Как в неонатальных, так и во взрослых эритроцитах спектрин 1 относительно более восприимчив к окислительному стрессу, чем спектрин 2, а спектрины во взрослых эритроцитах более лабильны к перекисному окислению, чем спектрины в неонатальных эритроцитах. На основании электрофоретических исследований с восстановлением мембран меркаптоэтанолом и без него классифицировано два типа МСГ: тип I адсорбируется на мембране за счет нековалентных взаимодействий, а тип II МСГ химически сшивается с компонентами мембраны дисульфидными мостиками; содержание обоих этих типов увеличивается при инкубации эритроцитов с возрастающими концентрациями H₂O₂. Белок полосы 6 присутствует в большем количестве у новорожденных, чем в мембранах эритроцитов взрослых. Поскольку общее содержание МСГ линейно увеличивается с уровнем окислительного стресса, предполагается, что его можно использовать в качестве маркера повреждения тканей, вызванного радикалами кислорода [216, 217].

Метилглиоксаль (МГ) является высокореактивным карбонильным соединением, демонстрируя свою роль в развитии большинства заболеваний, связанных со старением, включая диабет, рак и нейродегенеративные заболевания [218, 219, 220]. МГ представляет собой метаболит с относительно низким содержанием, с концентрацией в плазме здоровых людей около 50–300 нМ и внутриклеточной концентрацией около 1–2 мкМ [221, 222]. Из-за своей высокореактивной электрофильной природы большая часть МГ ковалентно связывается (обратимо) с эндогенными нуклеофилами, такими как тиолы, особенно с глутатионом и протеиногенными цистеинами в виде полумитиоацеталей, а также с белками и аминами ДНК в виде полуаминалей. МГ повсеместно присутствует во всех биологических организмах, так как он образуется в результате спонтанной деградации эндогенных метаболитов, в

гликирования (КПГ). КПГ играют важную роль в старении и связанных со старением заболеваниях, таких как рак, нейродегенеративные заболевания и диабет. Многие факторы способствуют накоплению метилглиоксаля, включая гипергликемию, уремию, окислительный стресс, старение и воспаление. МГ может реагировать и модифицировать как белки, так и ДНК, что приводит к образованию конечных продуктов расширенного гликирования [224]. Модификация мишеней метилглиоксалем и его производными способствует активации воспалительных и вызывающих повреждение тканей молекул (по крайней мере, частично за счет взаимодействия КПГ с их рецептором (РКПГ)), транскрипции генов, перекрестному связыванию белков и апоптозу. Сообщается о роли метилглиоксаля в модуляции экспрессии генов посредством гликирования критических остатков аргинина в корепрессорном белке mSin3A [223, 224].

Глиоксалазная система все еще может быть основной системой, контролирующей уровни МГ, но недавние данные показывают, что многие другие ферменты и пути также способствуют образованию и метаболизму МГ, раскрывая сложность метаболизма МГ. Помимо биологических сложностей, работа с МГ и реактивными карбонильными соединениями технически сложна, и исследователи должны быть осторожны со многими ловушками, которые существуют, например, при измерении МГ и интерпретации результатов. Сигнальные роли МГ и реактивных карбонильных соединений активно исследуются; однако механистические детали, в том числе знание центральной точки реактивного карбонильного стресса, опосредующей эффект, известны только в ограниченном количестве исследований [223, 224].

Особенно важным вопросом является предотвращение карбонильного стресса, так как после определенного периода воздействия метилглиоксаля генерация свободных радикалов становится самоподдерживающейся. С биохимической точки зрения необходимо рассмотреть идентификацию источников образования МГ и этапы эволюции его токсичности.

Вопреки распространенному мнению, гликолиз не является безобидным метаболическим путем для клеток, поскольку он неизбежно производит МГ в качестве побочного продукта. Накопление проникающего в клетку МГ очень вредно, так как это соединение является одним из наиболее сильнодействующих гликирующих агентов, продуцируемых в клетках. Он легко реагирует с белками, липидами и нуклеиновыми кислотами с образованием конечных продуктов гликирования (КПГ). КПГ вовлечены в различные патофизиологические механизмы, в том числе связанные с диабетическими осложнениями (катаракта, ретинопатия, нефропатия, ангиопатия), старением и нейродегенеративными расстройствами [225, 226]. В нормальных условиях детоксикация МГ в основном достигается за счет вездесущей ферментативной глиоксалазной системы, которая поддерживает концентрацию МГ на низком нетоксичном клеточном уровне.

Поскольку у мозга очень высокие потребности в энергии для поддержания функции нервных клеток, клетки головного мозга с большей вероятностью будут подвергаться воздействию МГ по сравнению с другими типами клеток.

Следовательно, обработка МГ нервными клетками должна жестко регулироваться, чтобы предотвратить необратимую токсичность МГ [226, 227].

МГ, дикарбонильное соединение, является повсеместным продуктом клеточного метаболизма, поэтому присутствует во всех клетках как в нормальных, так и в патологических условиях. Известны ферментативные и неферментативные способы получения МГ. Скорость образования МГ зависит от организма, ткани, клеточного метаболизма и физиологических условий.

В то время как МГ может образовываться как побочный продукт метаболизма белков и жирных кислот, гликолитический путь представляет собой наиболее важный эндогенный источник МГ посредством фрагментации триозофосфатов, глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат [228, 229].

К середине 1990-х годов основной задачей исследований метилглиоксаля была разработка методов точного измерения его концентрации. В настоящее время эти методы доступны, поэтому проблемы, с которыми сталкиваются исследователи, претерпели изменения. Необходимо решить какие патологические состояния могут привести к повышению концентрации МГ и каковы последствия этого. Это направление клинических исследований заключается в выявлении заболеваний, в которых может играть роль МГ [227, 228, 230, 231].

Текущие исследования в основном, но не исключительно, сосредоточены на сахарном диабете. Однако, необходимо выявить другие расстройства, при которых могут возникать патологии, спровоцированные МГ. К числу этих нарушений можно отнести те, при которых может присутствовать гликирование белков, образование белковых отложений (например, амилоида), повышенный распад белков и развитие кетоза. Следовательно, можно прогнозировать исследование болезни Альцгеймера, врожденных нарушений метаболизма и алкоголизма. Приведенный выше список расстройств справедливо указывает на другое направление исследований, поиск новых терапевтических стратегий [232].

С биохимической точки зрения необходимо рассмотреть идентификацию источников образования МГ и этапы эволюции его токсичности. Как известно, образование свободных радикалов не является ни предпосылкой, ни обязательным условием токсичности МГ, тогда как роль свободных радикалов, по-видимому, важна в распространении повреждений. Однако проведенные ранее исследования не дают достаточной информации о том, в какой степени развивающаяся токсичность связана с самим МГ.

Как показано, атака МГ легко приводит к активации реакций, продуцирующих АФК и АФА, которые заканчиваются либо некрозом, либо апоптозом. Заболевания, при которых можно предположить повышенную скорость образования МГ, вероятно, довольно распространены, поэтому понятно ожидание пациентов найти наиболее правильный способ лечения этих заболеваний [230, 231]. И это направление, в котором развиваются исследования.

Каталаза является антиоксидантом – основным регулятором метаболизма перекиси водорода, которая в высоких концентрациях является токсичным

агентом, в то время как в низких концентрациях она, модулирует физиологические процессы, такие как передача сигналов при пролиферации клеток, апоптоз, углеводный обмен и активация тромбоцитов. Под воздействием каталазы происходит разложение перекиси водорода на кислород и воду. Каталаза также может обеспечивать окисление перекисью водорода продуктов метаболизма различной природы и токсинов, включая формальдегид, ацетальдегид, муравьиную кислоту, фенолы и спирты.

Исследования активности каталазы в мозге, обнаружили более низкую активность в мозге людей с болезнью Альцгеймера, другие не отметили данной корреляции [233, 234, 235]. В исследовании с участием 25 человек с болезнью Альцгеймера и 25 человек из контрольной группы активность каталазы в крови была выше у людей с болезнью Альцгеймера, хотя не совсем ясно, свидетельствует ли измерение фермента в крови о его активности в головном мозге [236]. Ингибирование каталазы в клетках мозга *in vitro* делало эти клетки более восприимчивыми к повреждениям, связанным с болезнью Альцгеймера [237]. У мышей повышенный уровень каталазы снижал частоту бляшек в головном мозге, связанных с болезнью Альцгеймера [238, 239]. Дефицит или нарушение работы каталазы связано с патогенезом многих возрастных дегенеративных заболеваний, таких как сахарный диабет, гипертония, анемия, витилиго, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, биполярное расстройство, рак и шизофрения [240, 241].

Метаболизм пуринов, имеет возрастающую актуальность, в связи с увеличением информации о значимости катаболизма пуринов при заболеваниях, ранее с ним не связываемых, как и бессимптомная гиперурикемия, привлекающая все большее внимание в структуре общей заболеваемости [242, 243]. Факторами, влияющими на повышение МК являются особенности питания, пол, возраст и другие [242].

Пурины по своей структуре представляют собой гетероциклические азотистые соединения. Они представлены продуктами метаболизма энергоносителей – аденозинтрифосфата (АТФ) и гуанозинтрифосфата (ГТФ). Пуриновые соединения подразделяют на пуриновые нуклеотиды (АТФ, АДФ, АМФ, ИМФ, ГТФ, ГДФ и ГМФ), пуриновые нуклеозиды (аденозин, инозин, гуанозин) и пуриновые основания (аденин, гипоксантин, ксантин и гуанин) [244].

Пуриновые основания, такие как аденин и гуанин, и продукты их метаболизма ксантин и гипоксантин высвобождаются во внеклеточное пространство, где действует как межклеточные сигнальные молекулы [243]. В нервной системе они опосредуют как немедленные эффекты, такие как нейротрансмиссия, так и трофические эффекты, которые вызывают изменения в клеточном метаболизме, структуре и функции и, следовательно, имеют более длительный период времени. Некоторые трофические эффекты пуринов опосредованы пуринергическими рецепторами клеточной поверхности, тогда как другие требуют поглощения пуринов клетками-мишенями [245]. Конечный продукт катаболизма пуринов мочевая кислота, образующаяся путем гидролитического отщепления фосфатного остатка в результате ферментативных реакций [246].

Пуринергическая передача сигналов влияет на широкий спектр клеточных трансформаций, включая свойства и направленность передачи сигналов, трансформацию цитоскелета, экспрессию генов, секрецию, клеточную пролиферацию, дифференцировку и гибель клеток. Было обнаружено, что этот класс сигнальных молекул и рецепторов захватывает связь между нейронами и глиями (глией) в ядрах и периферических отделах нервной системы. Глия имеет крайне важное значение для нормальной функции мозга, развития организма и реакции на повреждение. Активность нервных импульсов, взаимодействие с глией, и непуринергическая передача сигналов имеет высокую степень взаимодействия между нейронами, глией и сосудистыми клетками в нервной системе. Эти взаимосвязи опосредуют влияние нейронной активности на развитие нервной системы, реакцию на повреждение, нейродегенерацию, демиелинизацию и рак [247].

1.4 Хронический стресс как фактор модификации морфологической структуры головного мозга

Отмечены ранние исследования, в которых описывались структурные особенности головного мозга (например, объем серого вещества), связанные с воспринимаемым стрессом. Но знаний о связи между воспринимаемым хроническим стрессом и внутрикортикальным миелином (ВКМ), который является важной микроструктурой мозга и имеет существенное значение для здоровых функций мозга и роль социальной поддержки в этой ассоциации значительно меньше. Используя выборку из 1076 здоровых молодых людей, отобранных в рамках проекта *Human Connectome Project*, была проведена оценка ВКМ по контрасту изображений T1w и T2w и исследовали его связь с воспринимаемым хроническим стрессом в течение последнего месяца и социальной поддержкой [248]. Поведенческие результаты показали, что воспринимаемый хронический стресс отрицательно связан как с эмоциональной, так и с инструментальной поддержкой. Вершинный множественный регрессионный анализ показал, что более высокий уровень воспринимаемого хронического стресса был значительно связан с более низким содержанием кластера ВКМ в правой надмаргинальной извилине (rSMG). Интересно, что эмоциональная поддержка, но не инструментальная поддержка, значительно опосредовала связь воспринимаемого хронического стресса с ВКМ в rSMG. Исследование предоставляет новые доказательства кортикальной демиелинизации воспринимаемого хронического стресса у людей и подчеркивает важную роль rSMG в воспринимаемом хроническом стрессе и эмоциональной поддержке [248].

Появляется все больше доказательств того, что стресс может быть связан со специфическими нейробиологическими факторами в дополнение к психосоциальным факторам. В частности, исследования предоставили более последовательные доказательства связи лимбической системы (например, гиппокампа, миндалин и миндалевидного тела) и префронтальной коры (например, медиальной префронтальной коры, орбитофронтальной коры) со стрессом [249, 250, 251]. Гиппокамп считается центральной областью мозга в отношении

стресса из-за наличия в нем большого количества рецепторов гормонов стресса (например, глюкокортикоидов), которые могут регулировать высвобождение гормонов стресса посредством воздействия на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, способствовать индивидуальной адаптации к стрессорам [248, 252, 253]. Однако фактом является то, что стресс может затрагивать гораздо более широкую сеть мозга, включающую обработку памяти, социальное познание, тормозящий контроль. В выборке взрослых Li H. и соавторы (2014) обнаружили, что воспринимаемый уровень стресса был связан с большими объемами серого вещества в билатеральном парагиппокампе, веретеновидной коре и энторинальной коре, а также с меньшими объемами серого вещества в правой островковой доле [253]. Продольное исследование Papagni S.A. и соавторов (2011) показали влияние жизненного стресса на структуру мозга человека: у людей, которые пережили более высокий уровень жизненного стресса, наблюдались значительные изменения в областях передней поясной извилины, гиппокампа и парагиппокампальной извилины [253]. Другое интервенционное исследование, основанное на йоге, показало, что практика йоги, которая, как считается, способствует снижению реакции на стресс, повышает активность верхней теменной извилины и супрамаргинальной извилины в ответ на стимулы, вызывающие эмоции [254]. Большинство предыдущих исследований были сосредоточены на типичных показателях визуализации головного мозга (например, объем серого вещества, толщина коры, объем белого вещества, функция мозга), однако неясно, является ли ВКМ, микроструктурой, которая фиксирует рост мозга и созревание, и может отражать индивидуальные различия в уровнях стресса.

Результаты нейровизуализации обнаружили связь между более высоким уровнем воспринимаемого хронического стресса и более низким содержанием ВКМ в rSMG. Надмаргинальная извилина (SMG) является частью задней теменной доли и считается ключевым центром телесного самосознания [255]. В дополнение к своему участию в восприятии собственного местоположения в пространстве [256], SMG также был связан с мониторингом своего периперсонального пространства [257]. Периперсональное пространство считается «запасом безопасности» вокруг тела, вторжение в которое вызывает дискомфорт и запускает соответствующие защитные реакции [258, 259]. Данные нейровизуализации показали, что SMG участвует в обработке угрожающих, болезненных и стрессовых стимулов в периперсональной пространственной сети [260, 261, 262]. Kogler L. и соавторы (2015) провели метаанализ исследований нейровизуализации и определили SMG как ключевую область мозга, активируемую во время физиологического стресса [262].

В исследовании Yiqun Guo и соавторы (2022) было впервые продемонстрировано, что изменения воспринимаемого хронического стресса имеют значительную связь с кортикальным миелином, измеряемым отношением T1w/T2. Люди, сообщающие о более высоком уровне воспринимаемого хронического стресса, демонстрируют более низкое содержание ВКМ в rSMG. Интересно, что воспринимаемая эмоциональная поддержка со стороны других в социальной сети значительно опосредовала связь между ВКМ в rSMG и

воспринимаемым стрессом. Результаты исследований предоставляют предварительные данные для понимания микроструктурного субстрата, лежащего в основе связанных со стрессом когнитивных функций у людей, и раскрывают важную опосредующую роль эмоциональной поддержки в ассоциации ВКМ в rSMG с воспринимаемым хроническим стрессом [248, 263].

Даже при отсутствии психопатологии повышенный воспринимаемый стресс связан с меньшим объемом гиппокампа [252, 264]. Одна из интерпретаций этих корреляционных данных заключается в том, что стрессовые и травматические жизненные события оказывают пагубное влияние на структуру гиппокампа. Действительно, влиятельные исследования, проведенные не на людях, показали, что хроническое воздействие стрессора приводит к атрофии области СА3 гиппокампа и снижению нейрогенеза у взрослых в прилегающей зубчатой извилине [252, 265]. Кроме того, проспективные исследования нейровизуализации показывают, что нарушения гиппокампа могут predispose людей к психопатологии, связанной со стрессом; например, сниженная активация гиппокампа вскоре после травматического воздействия предсказывает симптомы посттравматического стрессового расстройства через 3 месяца [266], а меньший объем гиппокампа у новобранцев полиции предсказывает появление симптомов посттравматического стрессового расстройства после последующего травматического воздействия [267].

Функция обработки информации при разделении паттернов была выдвинута в качестве возможного механизма, связывающего нарушение целостности гиппокампа с повышенным риском аффективных и тревожных расстройств [268, 269, 270]. Успешное разделение паттернов, о чем свидетельствуют редкие паттерны возбуждения гранулярных клеток DG взрослого организма, передаваемые в нижележащее подполе СА3, позволяет аналогичной поступающей информации отчетливо кодироваться и представляться в мозгу [271]. Для людей с предубеждением обработки информации, предпочитающим завершение паттерна разделению паттерна, новые события или объекты, которые имеют общие черты с пугающими, угрожающими или иными негативными воспоминаниями, могут (неадекватно) активировать эти существующие следы памяти, что может способствовать генерализации страха при посттравматическом стрессовом расстройстве и активация автоматических мыслей или когнитивная негибкость при депрессии [272, 273].

Хотя значительная роль активности миндалевидного тела в воздействии на стресс-индуцированные нервно-психические заболевания согласуется, специфические молекулярные механизмы и лежащие в их основе нейронные схемы все еще неясны. Примечательно, что ГАМК является одним из наиболее важных тормозных нейротрансмиттеров в ЦНС [274]. В состоянии покоя миндалевидное тело поддерживает высокий ГАМК-ергический тормозной контроль, который способствует устойчивости организма к различным физиологическим и экологическим стрессорам [275]. Гиперактивность и гиперреактивность миндалина, индуцированные стрессом, всегда сопровождаются снятием тормозного контроля. Является ли нарушение

тормозного контроля потенциальной патологической причиной возникновения различных нервно-психических заболеваний, пока неясно. Необходимо рассмотрение текущих исследований о вызванных стрессом изменениях нейротрансмиссии в миндалевидном теле и на потенциальные терапевтические возможности при нервно-психических заболеваниях, связанных со стрессом.

Количество исследований подтвердило важную роль префронтальной коры в интеграции и обработке сенсорной информации [276, 277, 278]. Префронтальная кора может регулировать поведенческие и физиологические реакции, вызванные сенсорными или эмоциональными стимулами, через сложную сеть связей с другими структурами мозга [279]. Исследования на людях и животных выявили причастность дисфункции цепей префронтальной коры миндалина и префронтальной коры к гиппокампу в патогенезе стресс-индуцированных нервно-психических расстройств [280, 281]. Более ранние исследования предполагают, что стимуляция различных субрегионов проекций медиальной префронтальной коры (мПФК) на миндалину оказывает соответственно тормозящее или возбуждающее действие на нейроны центральной миндалины (ЦМ) [282]. Затем дальнейшие исследования показали, что связанный стресс, как сообщается, вызывает увеличение выработки 5-гидрокситриптамина (5-ГТ) в мПФК, что впоследствии способствует накоплению ГАМК в базолатеральном комплексе миндалевидного тела (БЛКМ), а селективное истощение 5-ГТ в мПФК может уменьшить вызванное стрессом высвобождение ГАМК в БЛКМ и ослабляет депрессивное поведение [283]. Эти результаты показывают, что дисфункция цепи префронтальной коры-миндалевидное тело может быть связана с гиперреактивностью миндалины, вызванной стрессом.

Нейрональные и синаптические изменения, вызванные стрессом, по-видимому, проявляются в виде длительных морфологических изменений и структурной адаптации миндалины, которые могут лежать в основе развития тревоги или других расстройств настроения [284, 285]. Было обнаружено, что после 21 дня восстановления без стресса при хроническом иммобилизационном стрессе может даже наблюдаться рост дендритов на шипиковых нейронах БЛКМ, что сопровождается усиленным длительным тревожным поведением [285]. Также сообщается об аналогичном индуцированном хроническим иммобилизационным стрессом увеличении разветвления дендритов в пирамидных и звездчатых нейронах БЛКМ [286]. Установлено, что однократный иммобилизационный стресс приводит к постепенному увеличению плотности шипиков на главных нейронах БЛКМ, что сопровождается усилением тревожноподобного поведения. Такие морфологические и поведенческие изменения проявлялись через 10 дней после острого стрессового воздействия [287]. В дополнение к этому было обнаружено, что воздействие 21-дневного иммобилизационного стресса приводит к снижению экспрессии молекулы адгезии нервных клеток (PSA-NCAM) в ядрах мозгового миндалевидного тела (CeA) крыс [288, 289]. Учитывая, что в интернейронах, экспрессирующих PSA-NCAM, была обнаружена меньшая разветвленность дендритов и плотность шипов, чем в интернейронах, лишенных PSA-NCAM, вызванное хроническим

стрессом снижение PSA-NCAM изменяет функциональную связанность ГАМК-ергических интернейронов и дендритную реорганизацию основных нейронов в конкретном ядре миндалевидного тела [289]. Эти результаты показывают, что для генерации острых синаптических изменений, вызванных стрессом, требуется больше времени. Однако хронический или повторяющийся стресс может мгновенно привести к сильному и стойкому усилению синаптогенеза и тревожному поведению.

Стресс вызывает снижение экспрессии мозгового нейротрофического фактора (МНТФ) и механистической мишени рапамицина (mTOR) в синапсах, что, следовательно, способствует потере и атрофии специфических синапсов в областях мозга, вовлеченных в депрессию, особенно в префронтальной коре и гиппокампе [290, 291, 292]. Поразительно, индуцированная стрессом экспрессия МНТФ в миндалевидном теле несовместима с таковой в префронтальной коре и гиппокампе. Множество доказательств показало, что экспрессия МНТФ в миндалевидном теле увеличивалась после воздействия стресса [293]. Имеются противоположные результаты: у крыс, получавших хронический стресс, наблюдалось снижение экспрессии МНТФ, белка постсинаптической плотности 95 и синаптофизина в миндалевидном теле [294, 295]. Белок постсинаптической плотности 95 и синаптофизин хорошо известны как связанные с синапсом белки, которые могут действовать как маркеры синаптогенеза или синаптической потенциации. Кроме того, Yi E.S. и соавторы (2017) обнаружили, что хронический ограничивающий стресс усиливает экспрессию синаптофизина и белка постсинаптической плотности 95 в синапсах БЛКМ [296]. Таким образом, экспрессия МНТФ в миндалевидном теле проявляла тенденцию к увеличению после ограничивающего стресса, и это обнаруженное увеличение согласуется со стимулированием синаптогенеза в БЛКМ, вызванным хроническим стрессом [297].

Таким образом хронический стресс может индуцировать синаптогенез и синаптическое включение в синапсы БЛКМ, в то время как точная взаимосвязь между структурными и функциональными синаптическими изменениями других ядер миндалевидного тела и развитием связанных со стрессом нервно-психических заболеваний до сих пор неясна. Таким образом, необходимы дополнительные доказательства для выяснения более глубоких механизмов.

1.5 Терапевтические принципы коррекции последствий хронического стресса

В лечении психоневрологических расстройств в настоящее время применяется значительное количество групп препаратов. Как правило подбор терапии осуществляется в зависимости от основной нозологической формы постстрессовых и дезадаптационных расстройств индивидуализированно с учетом сопутствующих симптомов. Учитывая пересмотренную классификацию расстройств, специфически связанных со стрессом, согласно МКБ-11 по статистике смертности и заболеваемости, ввиду своей актуальности и разнообразия проявлений, в настоящее произошло расширение данной группы, что повысило актуальность необходимости пересмотра схем терапии состояний,

являющихся последствием стрессовых событий. Наиболее часто встречающееся расстройство адаптации 6В43, имеющее наиболее разнообразный спектр проявлений, предусматривает использование психотропных препаратов различной направленности, а в большинстве случаев, несущих в себе неоднонаправленный эффект.

Так, согласно имеющимся протоколам диагностики и лечения МЗ РК, в разделе неврологии и психиатрии версии 2017 и 2018 годов в лечении состояний вызванным стрессом предусмотрено применение препаратов терапии на амбулаторном и стационарном этапе, включающие антидепрессанты, транквилизаторы, нормотимические препараты и малые нейролептики различных подгрупп и механизмов действия с оговоркой на подбор препарата терапии индивидуально [298, 299].

В настоящее время отсутствуют унифицированные схемы терапии постстрессовых расстройств и подбор медикаментозной терапии осуществляется на основании ведущего синдрома, степени его выраженности и восприимчивости пациента к препаратам. Фармакологический выбор основан на действующей в настоящее время моноаминовой теории развития психических нарушений в том числе постстрессовых.

Клинические протоколы лечения РК включают в себя перечень препаратов, допустимых к использованию у пациентов с диагнозом «Невротические, связанные со стрессом, соматоформные расстройства» и «Реакция на стресс».

Наиболее активное применение в настоящее время имеет группа селективных ингибиторов захвата серотонина (СИОЗС), как наиболее безопасная и эффективная с позиции терапии расстройств с проявлениями депрессивного спектра. Активное применение при расстройствах тревожно-депрессивного характера и болевыми синдромами или расстройствами телесного спектра нашли селективные ингибиторы захвата серотонина и норадреналина (СИОЗСиН) [300]. Однако наличие этих групп препаратов не покрывает потребности пациентов в медикаментозной терапии и обеспечении купирования имеющихся проявлений постстрессовых расстройств. Следствием этого является применение обширной группы антидепрессантов различных механизмов действия. Антидепрессанты действуют посредством большого количества различных механизмов [301, 302, 303]. Сюда входят ингибиторы обратного захвата серотонина, трициклические антидепрессанты, вилазодон, вортиоксетин, ингибиторы обратного захвата норэпинефрина, ингибиторы обратного захвата дофамина (бупропион, аминептин, номифензин), прямая модуляция моноаминовых рецепторов (вилазодон, вортиоксетин, агомелатин, трициклические и тетрациклические антидепрессанты, нейролептики), ингибиторы моноаминоксидазы и антагонисты рецепторов NMDA (кетамин, эскетамин, декстрометорфан), среди других (например, брексанолон, тианептин) [301, 302, 303]. Некоторые антидепрессанты также обладают дополнительными действиями, такими как модуляция сигма-рецепторов (некоторые СИОЗС, трициклические антидепрессанты, декстрометорфан) и антагонизм гистаминовых H₁ и мускариновых рецепторов ацетилхолина [303, 304].

Значительное количество имеющихся антидепрессантов с пересекающимися механизмами действия обуславливают появление нескольких классификаций как по их химической структуре, так и по их преобладающему действию. При этом происходит постоянный пересмотр преимущественного действия препарата с его перемещением в другую группу по биологическому действию, длительности периода полувыведения либо оказываемому эффекту.

Однако весь имеющийся арсенал медикаментозных препаратов, не может решить проблему психоневрологической патологии, а в частности поведенческих расстройств. Продолжается поиск лекарственных средств с новыми механизмами действия, которые могли бы применяться у коморбидных пациентов и в случаях резистентных форм депрессии, обсессивно-компульсивного расстройства, тревожных расстройств и расстройств, в том числе связанных с воздействием стрессорных факторов, как наиболее часто встречающихся.

Несмотря на успехи, достигнутые в последние десятилетия в области диагностики и терапии пограничных расстройств, в том числе расстройств, специфически связанных со стрессом, медикаментозная коррекция этой патологии остаётся важной проблемой медицины и требует воздействия на многоаспектные терапевтические мишени. При всем имеющемся арсенале психотропных средств, проблема фармакотерапии стрессовых расстройств открыта, ввиду многогранности симптоматики и фармакорезистентности.

Определенное значение имеет факт критики со стороны некоторых психиатрических сообществ, которые, либо рассматривают диагноз расстройства адаптации как возможность использования мягкого нестигматизирующего «ярлыка», для получения пациентами лечения, либо говорят о проблеме, как причине существования истинного страдания пациента, вред который нанесен несправедливыми социальными системами, что позволяет считать истинным расстройством, требующим вмешательства в те самые системы, вызывающие проблему, а не поиск причины в человеке, страдающих от них [305]. Однако решение социальных задач не является сиюминутным аспектом, в то время как выбор терапии расстройств, обусловленным стрессом, изучение механизмов их развития, течения и факторов повреждающего действия, значимого для всего организма и подтвержденного многими исследованиями, остается по настоящее время нерешенным и острым вопросом [262, 273, 292, 301, 303, 304].

Явной проблемой остается различие в ответе пациентов на фармакотерапию, при которой треть пациентов достигает полной ремиссии, у трети наблюдается положительный ответ, и одна треть пациентов не демонстрирует никакого эффекта.

Существуют разногласия среди ученых, основным из которых является альтернативная теория антидепрессантов, заключающаяся в предположении, что они действуют в значительной степени или полностью через механизм плацебо [306, 307, 308, 309, 310]. Это подтверждается метаанализом рандомизированных контролируемых исследований антидепрессантов при депрессии, которые неизменно показывают, что в исследованиях группы плацебо улучшают

состояние в среднем примерно на 80–90% по сравнению с группами антидепрессантов [311, 312, 313], и что антидепрессанты лишь незначительно более эффективны при депрессии, чем плацебо [308, 314, 315, 316, 317]. Разница между антидепрессантами и плацебо соответствует величине эффекта около 0,3, что, в свою очередь, соответствует дополнительному улучшению показателей на 2–3 балла по шкале Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) [317].

Реакция на плацебо или улучшение показателей в группе плацебо в клинических испытаниях обусловлена не только эффектом плацебо, но также и другими явлениями, такими как спонтанная ремиссия и регрессия к среднему значению [311, 318]. Michael P. Hengartner утверждал и представил доказательства того, что спонтанная ремиссия и регресс к среднему значению могут фактически объяснять большую часть улучшения показателей депрессии при антидепрессантах и что существенный эффект плацебо, наблюдаемый в клинических испытаниях, в значительной степени может быть методологическим артефактом, что говорит о том, что антидепрессанты могут приносить гораздо меньшую реальную пользу от лечения, будь то из-за эффекта плацебо или самого антидепрессанта, чем традиционно предполагалось [318].

Расстройство адаптации подвергается критике со стороны меньшинства профессионального сообщества, а также представителей полусвязанных профессий за пределами сферы здравоохранения. Во-первых, подверглась критике его классификация. Его критиковали за отсутствие специфичности симптомов, поведенческих параметров и тесную связь с факторами окружающей среды. По этому поводу было проведено сравнительно мало исследований [319]. В настоящее время количество исследований расстройств адаптации значительно увеличилось и наиболее актуальным остается вопрос не только терапии расстройств, связанных со стрессом, предполагающих как фармакологические и психотерапевтические методики, но и механизмы повреждающего действия стресса на организм в целом с формированием органической патологии, вовлекающей множество органов и систем организма.

Проблема выбора препаратов для исследования заключалась в их достаточной изученности, понимании механизмов действия, знания спектра побочных эффектов, противопоказаний к применению и влиянию на состояния, связанные с воздействием хронического умеренного стресса, непосредственно приводящего к расстройствам адаптации с развитием дезадапционного синдрома множественных вариаций направленности. Помимо этого, включение в исследование препарата-плацебо являлось неоспоримым важным аспектом последующего анализа результатов и теорий, рассматриваемых исследователями по влиянию плацебо на терапию расстройств, связанных со стрессом.

Длительное время для лечения устойчивых и комбинированных форм стрессовых расстройств применяется группа ингибиторов моноаминоксидазы (МАО), основным механизмом действия которых является подавление инактивации моноаминовых медиаторов [320, 321]. Особый интерес представляют селективные ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО), отличающиеся от традиционных неселективных меньшим набором побочных эффектов и сохранением высокого качества жизни [322].

Моноаминоксидаза (МАО) представляет собой широко распространенный митохондриальный фермент с высоким уровнем экспрессии в желудочно-кишечном тракте и печени, а также в тканях нейронов. Фермент катализирует окислительное дезаминирование различных моноаминов, как эндогенных, так и экзогенных, и играет важную роль в метаболизме высвобождаемых нейротрансмиттеров и в детоксикации большого количества эндогенных и экзогенных аминов. Препараты, ингибирующие МАО, в настоящее время используются в клинической практике для лечения аффективных расстройств и болезни Паркинсона.

Ингибиторы МАО (МАО-А и МАО-В) используются в клинической практике для лечения психических и неврологических расстройств соответственно. Выяснение молекулярной структуры активных центров ферментов позволило точно определить, каким образом субстраты и молекулы-ингибиторы метаболизируются или ингибируют метаболизм субстратов, соответственно. Несмотря на знание сильной антидепрессивной эффективности необратимых ингибиторов МАО, их клиническое применение было ограничено побочным эффектом потенцирования сердечно-сосудистых эффектов диетических аминов («сырный эффект»). В литературе описан ряд обратимых ингибиторов МАО-А, лишенных тирозинового эффекта, но только один из них, моклобемид, в настоящее время используется в клинической практике. Необратимые ингибиторы МАО-В селегилин и разагилин, используются в клинической практике для лечения болезни Паркинсона, а недавно введенный обратимый ингибитор МАО-В, сафинамид, также оказался эффективным. Модификация фармакокинетических характеристик селегилина при трансдермальном введении привела к разработке новой лекарственной формы для лечения депрессии. Клинический потенциал ингибиторов МАО вместе с подробным знанием структуры сайта связывания фермента должен привести к будущим разработкам этих препаратов [323].

Гармин (7-метокси-1-метил-9Н-пиридо[3, 4-*b*]индол) представляет собой трициклический бета-карболиновый алкалоид, первоначально выделенный из семян гармалы обыкновенной в 1847 году. Гармин и другие бета-карболиновые алкалоиды обладают противомикробными, антиплазмодальными, противогрибковыми, антиоксидантными, противоопухолевыми, антимуtagenными, цитотоксическими и галлюциногенными свойствами [323, 324]. Соединения бета-карболина действуют как обратные агонисты бензодиазепинового участка рецепторов гамма-аминомасляной кислоты типа А и обладают действием, полностью противоположным действию анксиолитических бензодиазепинов. Эти соединения также связаны с потенциацией моноаминергических путей посредством ингибирования (МАО) А или В, блокады сайтов обратного захвата и прямой активации моноаминовых рецепторов [324]. Гармин и родственные алкалоиды являются антагонистами серотонина, галлюциногенами, стимуляторами ЦНС и кратковременными ингибиторами моноаминоксидазы (МАО). Малые дозы (25/50 мг) действуют как мягкий и терапевтический церебральный стимулятор, иногда вызывая сонливость или мечтательное состояние на 1/2 часа. Большие дозы до 750 мг

могут иметь галлюциногенные эффекты, интенсивность которых широко варьируется в зависимости от человека [325].

Эти алкалоиды обладают широким спектром фармакологического действия, включая ингибирование МАО, связывание с бензодиазепиновыми рецепторами, судорожное или противосудорожное действие, треморогенез, анксиолитическое и поведенческое действие, антиоксидантное действие и иммуномодулирующее действие. Были также некоторые сообщения о сердечно-сосудистых действиях алкалоидов гармалы [326].

Сообщалось о нескольких фармакологических действиях гармина, таких как антитромбоцитарная, антимикробная, антиоксидантная, антидепрессантная и антипротозойная [327]. Он может взаимодействовать с несколькими ферментами и нейротрансмиттерами, включая топоизомеразу I, 5-НТ, моноаминоксидазу-А, В и циклин-зависимые киназы, и обладает миорелаксирующими, седативными, противосудорожными, снотворными и анксиолитическими свойствами [324]. Гармин и другие β -карболины могут действовать как антидепрессанты [328] и проявлять ингибирование роста нескольких линий опухолевых клеток человека, а также опухолевых клеток мышей [329, 330].

Установлено, что гармина гидрохлорид в определенной дозе устранял галоперидол-индуцированную каталепсию у крыс и уменьшал олигокинезию и ригидность в пробе паркинсонизма у мышей. Через семь дней после эксперимента авторы обнаружили наличие ригидности у животных, получивших нейротоксин. Это проявлялось в укорочении длины шага по сравнению с этим показателем в интактном контроле [331].

Данные проведенных ранее доклинических исследований предполагают наличие антидепрессивного, противопаркинсонического, противогипоксического действия гармина гидрохлорида. Гармина гидрохлорид устраняет каталепсию, вызванную галоперидолом у крыс, уменьшает олигокинезию и ригидность в тесте паркинсонического синдрома. В тестах «закрытый крестообразный лабиринт» и «скользящая воронка» гармина гидрохлорид проявил психотропное действие стимулирующего типа, при этом сравнительно высокая активность выявлена по показателям, характеризующим влияние на двигательную активность и поведение в условиях безвыходной ситуации, что свидетельствует о наличии у гармина гидрохлорида свойств мягкого антидепрессанта (тимолептика). Изучение относительной биодоступности гармина гидрохлорида на экспериментальных животных показало, что гармина гидрохлорид значительно быстрее всасывается при введении внутрь, быстро достигает наибольшей концентрации в плазме крови. По результатам молекулярного докинга выявлено наличие прочных связей у гидрохлорида гармина с моноаминоксидазами А и В, что свидетельствует о реализации механизма антидепрессантного действия гармина гидрохлорида на уровне синаптической нейротрансмиссии [332]. Учитывая современные требования к разработке лекарственных средств и широкий спектр фармакологической активности гармина и его водорастворимой формы – гармина гидрохлорида,

доклинические и клинические их исследования являются перспективным направлением в фармакологии и психоневрологии [332].

Неселективные блокаторы обратного нейронального захвата моноаминов, к числу которых относятся трициклические антидепрессанты, действуют в первую очередь как ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (СИОЗСН), блокируя переносчик серотонина и переносчик норадреналина соответственно, что приводит к повышению синаптических концентраций этих нейротрансмиттеров и, следовательно, усилению нейротрансмиссии [333, 334]. Примечательно, что, за единственным исключением аминептина, трициклические антидепрессанты имеют слабое сродство к транспортеру дофамина и, следовательно, имеют низкую эффективность в качестве ингибиторов обратного захвата дофамина. Хотя трициклические антидепрессанты иногда назначают при депрессивных расстройствах, в большинстве стран мира они были заменены в клиническом применении более новыми антидепрессантами, такими как селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС), ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (СИОЗСН) и ингибиторы обратного захвата норадреналина. Было обнаружено, что побочные эффекты трициклических антидепрессантов и СИОЗС имеют одинаковый уровень [335].

Амитриптилин представляет собой трициклический антидепрессант, в основном используемый для лечения большого депрессивного расстройства, различных болевых синдромов, таких как нейропатическая боль, фибромиалгия, мигрень и головные боли напряжения [336, 337]. Из-за частоты и выраженности побочных эффектов амитриптилин обычно считается терапией второй линии при этих показаниях, однако не снижает частоты его применения [338, 339, 340, 341]. Уровни амитриптилина в крови значительно различаются у разных людей [342], и он способен взаимодействовать со многими другими лекарствами, потенциально усугубляя их побочные эффекты.

Амитриптилин был открыт в конце 1950-х годов учеными компании Merck и одобрен Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) в 1961 году [343]. Он включен в Список основных лекарственных средств Всемирной организации здравоохранения, доступен в виде непатентованного лекарства [344, 345]. В 2020 году это было 81-е место среди наиболее часто назначаемых лекарств в США: на него было выписано более 9 миллионов рецептов [346, 347]. Широкий спектр показаний к применению, расширенный спектр влияния и долгая история использования амитриптилина, в настоящее время и «off-label» позволяет применять его как стандартный препарат сравнения в исследованиях, касающихся психопатологии, в том числе и связанной со стрессом.

1.6. Проблема выбора экспериментальной модели стресс-индуцированных расстройств

Длительное время для формирования моделей психоневрологических расстройств использовались модели однотипного воздействия с повторяющимися, либо однократными воздействиями на испытываемое животное

с последующим введением ему исследуемого вещества и оценкой реакции на него. На основании данных экспериментов было разработано множество веществ, используемых в нейропсихиатрической практике, большую часть из которых представляют препараты с антидепрессивным и анксиолитическим действием. Подобная практика распространена для этих групп препаратов в связи с отсутствием в картине истинного заболевания физического воздействия при развитии – дегенерации, ишемии, травмы и других повреждений. Однако, научный прогресс поставил перед исследованиями вопросы валидности используемых моделей и достоверности получаемых в подобных исследованиях результатов. С получением все большей информации о факторах развития психоневрологических заболеваний были сформулированы выводы о том, что достижение полного подобия нозологии у экспериментальных животных требует соблюдения подобия всех влияющих факторов, немаловажным из которых является индивидуализированная реакция экспериментального животного на воздействие, как и в случае с человеком – перносонифицированная личностная реакция.

Созданные модели тревоги и депрессии не соответствовали в полной мере патофизиологическому механизму развития заболевания у человека. Однако и на сегодняшний день данные модели применяются в исследовании новых веществ, но как правило в комбинации, для обеспечения оказываемым воздействием большего количества симптомов истинного заболевания. К числу используемых моделей относятся модели на основе отчаяния (тест «Порсолта», тест «Подвешивание за хвост»), методы основанные на системе вознаграждения (тест «Предпочтение сахарозы», самостимуляция) Позже в процедуры исследований были внедрены методики, сопряженные со стрессовым воздействием, основываясь на предположительном возникновении заболеваний под воздействием стресса в разные периоды жизни. Батарея подобных тестов включала модель выученной беспомощности, стресс социального поражения, стресс раннего периода жизни, лишение матери. Тесты, основанные на тревоге, включали «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темная/светлая камера» использовались для выявления эндофенотипа депрессии. Процедуры с удалением обонятельных луковиц и отменой психостимуляторов применяются и по настоящее время [348]. Тем не менее подобные тесты более специфичны как скрининговая оценка, при уже имеющемся, либо сформированном расстройстве поведения другими методами.

Перспективными методами для изучения действия препаратов являются «нокаутные» лабораторные животные с отключенными генами того или иного спектра. Однако популяции подобных животных, как правило доступны в крупных лабораториях и находятся на стадии продолжающегося изучения.

Наиболее распространенный, управляемый и валидированный метод в современной экспериментальной психофармакологии, который продолжает неуклонно совершенствоваться это непредсказуемый умеренный/легкий стресс.

История разработки критериев валидации и создания модели непредсказуемого умеренного стресса насчитывает несколько десятков лет.

Спустя 30 лет модель депрессии с хроническим легким стрессом использовалась в более чем 1300 опубликованных исследованиях, при этом в 2015 г. ежегодное увеличение составило более 200 статей. Данные опроса пользователей показывают, что в то время, как используются различные названия (хронический легкий/умеренный/непредсказуемый/вариабельный стресс), они описывают, по существу, одну и ту же процедуру. Обновленная информация о валидности и надежности модели ХНУС, а также обзор последних данных о нейробиологической основе эффектов ХНУС и механизмов действия антидепрессантов: объем этого исследования может быть уникальным в предоставлении всестороннего описания действия антидепрессантов в единой модели. Также обсуждается использование ХНУС при поиске лекарств с особым упором на гиппокампальные и внегиппокампальные мишени [349].

Преодолевается скептицизм в медицинской среде по вопросам формирования моделей аутизма, шизофрении, разграничения депрессии и тревожного расстройства. Однако подход большинства исследователей более конструктивен и направлен на повышение качества моделей, фокусируясь на методологических проблемах. С 1960-х годов повышение достоверности моделей на животных было решено совершенствовать путем развития и повышения критериев качества.

По мнению различных авторов, животная модель психического расстройства должна соответствовать многомерному набору критериев достоверности, представленных в Таблице 2, чтобы считаться релевантной для патологии человека, продолжая ориентироваться на депрессию и тревожное расстройство.

Таблица 2 – Критерии достоверности в животных моделях депрессии и тревожных расстройств [349]

Прогностическая достоверность	Проверка внешнего подобию	Конструктивная валидность	Другие	Количество критериев
Специфичность			Эффективность Скорость Простота Воспроизводимость Адекватный дизайн Адекватная обработка данных Корреляция с другими тестами	8
Аналогичный ответ на лечение	Аналогия симптомов		Наблюдаемые и измеримые поведенческие изменения Соглашение между наблюдателями Воспроизводимость системы	5

Продолжение таблицы 2

Является ли модель подробной в описании особенностей своего лечения? Сходство лечения	Сходство симптомов	Тщательна ли модель в описании особенностей ее причины? Сходство физиологии, причина	Описывает ли модель расстройство или подкатегорию? Полно ли модель описывает особенности ее предотвращения? Сходство профилактики	4
Предсказуемость	Изоморфизм	Гомологичность		3
Прогностическая достоверность	Проверка внешнего подобия	Конструктивная валидность	Надежность Этиологическая валидность Конвергентная валидность Дискриминантная валидность	
Предиктивность	Внешнее подобие	Воссоздание		3
Предиктивность	Внешнее подобие	Этиологическая валидность Конструктивная валидность	Конвергентная валидность Надежность	6
Предиктивность	Внешнее подобие	Создание условий		3

Интересно, что с 1960-х годов авторы стали больше интересоваться критериями внешней валидности и меньше — критериями внутренней валидности, исключая некоторых [350, 351, 352]. Внутренняя валидность относится к согласованности плана эксперимента: воспроизводимость, надежность между наблюдателями, рандомизация, многоцентровой дизайн, дизайн (тест-контроль), слепое экспериментирование и т. д. Эти вопросы действительно не специфичны для исследований на животных, но широко распространены во всех областях экспериментальной науки [350]. С другой стороны, внешняя валидность касается общего вопроса о применимости результатов исследования выборки к целевой популяции: она, очевидно, вызывает дополнительную озабоченность в случае животных моделей из-за необходимости прибегать к аналогичным аргументам. Именно эти опасения привели к необходимости специальных критериев для обеспечения внешней валидности исследований на животных.

Большинство исследователей, работающих в области животных моделей депрессии, полагаются на предложение, сделанное Poul Willner в 1984 г., о трех критериях валидности: внешняя валидность, прогностическая валидность и конструктивная валидность [353]. Willner был вдохновлен критерием конструктивной валидности, предложенным 30 лет назад Cronbach L.J и Meehl P.E в области психологии [353].

Статью Willner от 1984 года действительно можно считать основополагающей в области животных моделей психических расстройств (на январь 2023 г. она цитировалась более 1690 раз), и большинство авторов сейчас ссылаются на нее, либо изменяя некоторые критерии этого списка, либо добавляя иерархию между этими критериями. Soubrie и Simon, например, используют французские термины для обозначения «гомологии», «изоморфизма» и «предсказуемости», в то время как Koob и соавторы не включают прогностическую валидность, но добавляют этиологическую валидность и конвергентную валидность [353].

Geyer M.A. и Markou A. включают этиологическую валидность, конвергентную и дискриминантную валидность и утверждают, что прогностическая валидность является решающим аспектом [350]. Koob и соавторы считают надежность и прогностическую валидность важными критериями, в то время как внешняя, конвергентная, этиологическая и конструктивная валидность являются более второстепенными [350]. Для Sarter M. и Bruno J.P., с другой стороны, конструктивная валидность гораздо важнее, чем внешняя и прогностическая валидность [350]. Для Robbins T.W. гомология является центральной для конструктивной валидности [350]. Однако возможно, что эти расходящиеся точки зрения также вытекают из различных определений различных критериев.

Критерии, предложенные различными авторами, сравниваются с тремя критериями, разработанными Willner (1994). В понимании конструктивной валидности картина довольно сложная, и взгляды, отстаиваемые различными авторами, суммированы в таблице 3.

Таблица - 3. Прогресс представления-определения термина «конструктивная валидность» по данным различных исследователей

Понимание конструктивной валидности исследователями [349]
«Способность поведения в модели (1), и моделируемые признаки депрессии (2) быть однозначно интерпретированы, гомологичны ли они (3) и находится ли моделируемый признак в установленном эмпирическом (4) и теоретическом (5) отношении к депрессии». (Willner P., 1984)
«Теоретическое описание неупорядоченного поведения в модели, теоретическое описание самого расстройства и средство согласования двух теорий». (Willner P., 1994)
«Конструктивная валидность теста обычно определяется как точность, с которой тест измеряет то, для чего он предназначен». (Geyer M.A., 1995)
«Точность, с которой модель измеряет то, для измерения чего она предназначена» (Koob G.F., 1995)
«Приведение теоретического объяснения как самого расстройства, так и неупорядоченного поведения, демонстрируемого моделью, в соответствие». (Willner P., Mitchell P.J., 2002)
«Теоретико-экспериментальное обоснование поведенческих и/или нейронных компонентов модели» «(...) сопоставление теории биопсихологических механизмов человеческого расстройства с биопсихотеорией поведения конкретного животного». (Sarter M., Bruno J.P., 2002)

Животная модель болезни — это не просто модель действия терапевтического агента в момент времени t . Он должен основываться на

сравнении двух патологических организмов, но, возможно, должен также имитировать временной и этиологический процесс трансформации здорового организма в патологию через состояние уязвимости [353].

Было показано, что «уязвимый» статус связан с некоторыми эпигенетическими изменениями, включающими такие процессы, как специфичное для региона метилирование ДНК или ацетилирование гистонов. Было обнаружено, что гистондеацетилаза 2 повышена у мышей, уязвимых к социальному поражению, а ингибитор гистондеацетилазы, бутират натрия, оказывает антидепрессантоподобное действие [354]. Таким образом, в будущем возможно будет расширить обратный процесс не только от патологического до уязвимого состояния, но и от патологического или уязвимого состояния до устойчивого состояния.

Валидность животных моделей психических расстройств обычно оценивается с использованием многомерного подхода, где помимо, конструктивной валидности (модель имеет серьезное теоретическое обоснование) учитывается внешняя валидность (между ними существует феноменологическое сходство) и прогностическая валидность. Что касается животных моделей депрессии, прогностическая достоверность относится в первую очередь к специфической и избирательной реакции на (лекарственные и нелекарственные) антидепрессанты; внешняя валидность оценивается путем сравнения с контрольными списками симптомов DSM (теперь DSM-V и МКБ-11) с особым упором на основные симптомы депрессии; а конструктивная валидность основана на аргументе сходства психологических конструкций, таких как реакция на вознаграждающие события, или, если они известны, лежащие в их основе нейробиологические механизмы. Модель ХНУС была первой моделью, которую систематически исследовали с использованием этой структуры, как обобщается в обзоре первых десяти лет исследований ХНУС (Willner, 1997) [349].

В последние годы большую популярность приобрел трансляционный подход, направленный на преодоление разрыва между фундаментальными исследованиями на животных и медицинской практикой. Эта концепция, хотя и не новая в медицине, стала популярной после ее введения в инициативу *National Institutes of Health Roadmap* [355, 356]. Это относится и к области психиатрии, при изучении аффективных расстройств – нозографической единице, включающей депрессию и тревожные расстройства. В рамках трансляционной медицины надежный подход должен включать как исследования, идущие от лабораторных к больничным (от животных к людям или от фундаментальных исследований к клиническим), так и «обратные исследования» (от людей к животным). Большинство усилий было направлено на первое, сосредоточив внимание на разработке моделей животных (особенно с использованием грызунов), которые были бы актуальны для изучения расстройства человека и прогнозирования терапевтических результатов будущих методов лечения. Эти совместно применяемые подходы имеют решающее значение при попытке оценить функцию некоторых механизмов, обнаруженных на животных моделях, в патофизиологии заболеваний человека и при попытке найти новые методы

лечения этих состояний. Так, вклад нейрогенеза гиппокампа в патофизиологию депрессии и в терапевтическую эффективность фармакологических методов лечения был показан на моделях грызунов [354,], а затем подтверждены в исследованиях на людях [355]. В любом случае эти подходы требуют, чтобы эти модели грызунов подходили для изучения клинического состояния [354].

Животная модель имеет валидность, поскольку она похожа на смоделированное заболевание человека. Действие этиологических факторов на наблюдаемые эффекты модельного заболевания сходно с их действием на наблюдаемые эффекты болезни человека. Если хронический стресс запускает биомаркеры, связанные с депрессией, как у людей, так и у животных, модель на животных, основанная на хроническом применении стрессоров, может иметь хорошую достоверность индукции. В последнем случае действие лечения на наблюдаемые эффекты в животной модели может напоминать его действие на наблюдаемые эффекты при заболевании человека. Например, если хронические антидепрессанты вызывают ремиссию у людей, они должны вызывать такие же эффекты на животных моделях, чтобы получить высокие баллы по достоверности ремиссии. Таблица 4 резюмирует эти девять критериев.

Таблица 4 – Критерии достоверности моделей на животных с позиции трансляционного подхода [355].

Тип действия	Аспект действительности	Объект достоверности (животное/человеческое подобие...)
Гомологическая валидность	Видовая валидность	Разновидность
	Валидность штамма	Штамм
Патогенная валидность	Онтопатогенная валидность	Взаимодействие, превращающее исходный организм в уязвимый организм.
	Инициирование действия	Взаимодействие, превращающее исходный или уязвимый организм в патологический организм.
Механистическая валидность		Теоретические когнитивные или нейробиологические механизмы, вызывающие наблюдаемые эффекты болезни.
Этическая норма	Этологическая достоверность	Поведенческие симптомы заболевания
	Достоверность биомаркера	Биомаркеры, связанные с заболеванием
Прогностическая валидность	Индукционная валидность	Связь между провоцирующим фактором и наблюдаемыми последствиями заболевания.
	Действительность ремиссии	Связь между терапевтическим агентом и наблюдаемыми эффектами болезни.

Конечно, все эти критерии должны быть сбалансированы с этическими последствиями, сформулированными в рамках исследований на животных (замена, уточнение, сокращение). Например, может случиться так, что животная модель имеет высокие баллы по всем этим шкалам валидности (что указывает на то, что она может участвовать в уточнении процедуры), но она связана с

болезненными переживаниями для животных: в этом случае общий высокий балл для девяти критериев должны быть сбалансированы в соответствии с этими этическими соображениями.

Проведено исследование, где оценили изменения экспрессии отдельных генов, участвующих в гликолитическом пути, и уровней гликогенных и нейроактивных аминокислот в мозге крыс, подвергшихся ХНУС. В попытке имитировать чрезмерный ежедневный стресс человека было разработано несколько моделей животных. ХНУС, хорошо проверенная модель на животных, широко использовалась для изучения клинической депрессии. Метод, в котором множественные стрессоры опираются на способность последовательности относительно мягких стрессоров, может привести к поведенческим изменениям. Модель депрессии ХНУС, с участием переменных стрессоров, имеет высокую достоверность, поскольку большое количество недавних публикаций подтвердило, что ХНУС индуцирует поведенческие и нейрохимические изменения у животных, которые сходны с симптомами и предполагаемые нейрохимические изменения, сопровождающие депрессию у людей [357, 358, 359]. Этот протокол, в отличие от других протоколов хронического стресса, в которых используется только один стрессор, использует переменные стрессоры, что предотвращает адаптацию к стрессу. В исследованиях крыс 40-дневным переменным стрессом подтверждены изменения в пищевом поведении и нарушения нейротрансмиссии в головном мозге грызунов [359]. Более того, было доказано, что у животных, подвергшихся ХНУС, могут проявляться некоторые эффекты, такие как увеличение надпочечников всего через 2 недели стресса, в то время как для развития поведенческих и нейрохимических изменений здесь может потребоваться больше времени [359]. Однако сама формулировка о «модели депрессии ХНУС» не является верной, нарушая критерии валидности, ввиду непредсказуемости развития поведенческого расстройства, как и самой депрессии, которая свойственна человеку, но не животному.

Исследование, отражающее мнение Р. Willner - основоположника непредсказуемого легкого стресса в моделировании стресс-индуцированного расстройства (СИР), посвященное взгляду на надежность модели депрессии с хроническим легким стрессом на основании опроса пользователей –подробно освещена в статье 2017 года [358].

Описаны ограничения исследователей, такие как небольшой размер и разнообразие «менее надежной» выборки лабораторий, упущение лабораторий, которые могли работать с моделью ХНУС, но не публиковали свои данные, отсутствие достоверности данных серьезности включенных в режим формирования СИР, сосредоточение внимания на наиболее широко используемых показателях ангедонии, вызванной ХНУС (за исключением, например, тревожно-подобных эффектов ХНУС). Отсутствие подробных данных эффективности терапии в модели. Важным выводом является то, что модель ХНУС в целом кажется надежной в лабораториях и надежной в разных лабораториях; и многие опубликованные заявления о том, что процедура ненадежна, неверны. В то время как критические особенности процедуры ХНУС

остаются неопределенными, успех использования модели, по-видимому, зависит от взаимодействия между индивидуальными различиями в восприимчивости к стрессу, как внутри популяций животных, так и между ними, общей серьезностью стресса, применяемыми микрострессами, которые должны быть достаточно интенсивными, чтобы вызвать физиологическую реакцию на стресс, и достаточно изменчивыми, чтобы предотвратить привыкание к их повторному проявлению, и надлежащая лабораторная практика, которые особенно важны, когда тест на сахарозу используется в качестве основного критерия результата [349].

Суммируя опыт и наблюдения исследователей, необходимо признать, что модель ХНУС, разработанная Willner, может быть применена как эталонная для формирования СИР. Однако введение элементов трансляционного подхода может совершенствовать выполнение исследования, расширяя подобность изучаемым состояниям. Скрининговые модели, используемые ранее применимы как тесты поведенческих нарушений, а результат ХНУС как стресс-индуцированную реакцию (в том числе расстройство адаптации), ввиду отсутствия методов фиксации персонифицированных реакций, характерных для человека.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Исследование состояло из двух серий, представленных на рисунке 4. В первой серии произвели формирование модели стресс-индуцированного расстройства у крыс методом хронического непредсказуемого умеренного стресса (ХНУС) с использованием двух групп крыс: без хронического стресса (группа 1) и группа ХНУС (группа 2). Во второй серии воспроизвели модель ХНУС, с последующим проведением терапевтического фармакологического воздействия у крыс, разделенных на три группы с использованием плацебо (группа 3), гармина гидрохлорида (группа 4), amitриптилина (группа 5).

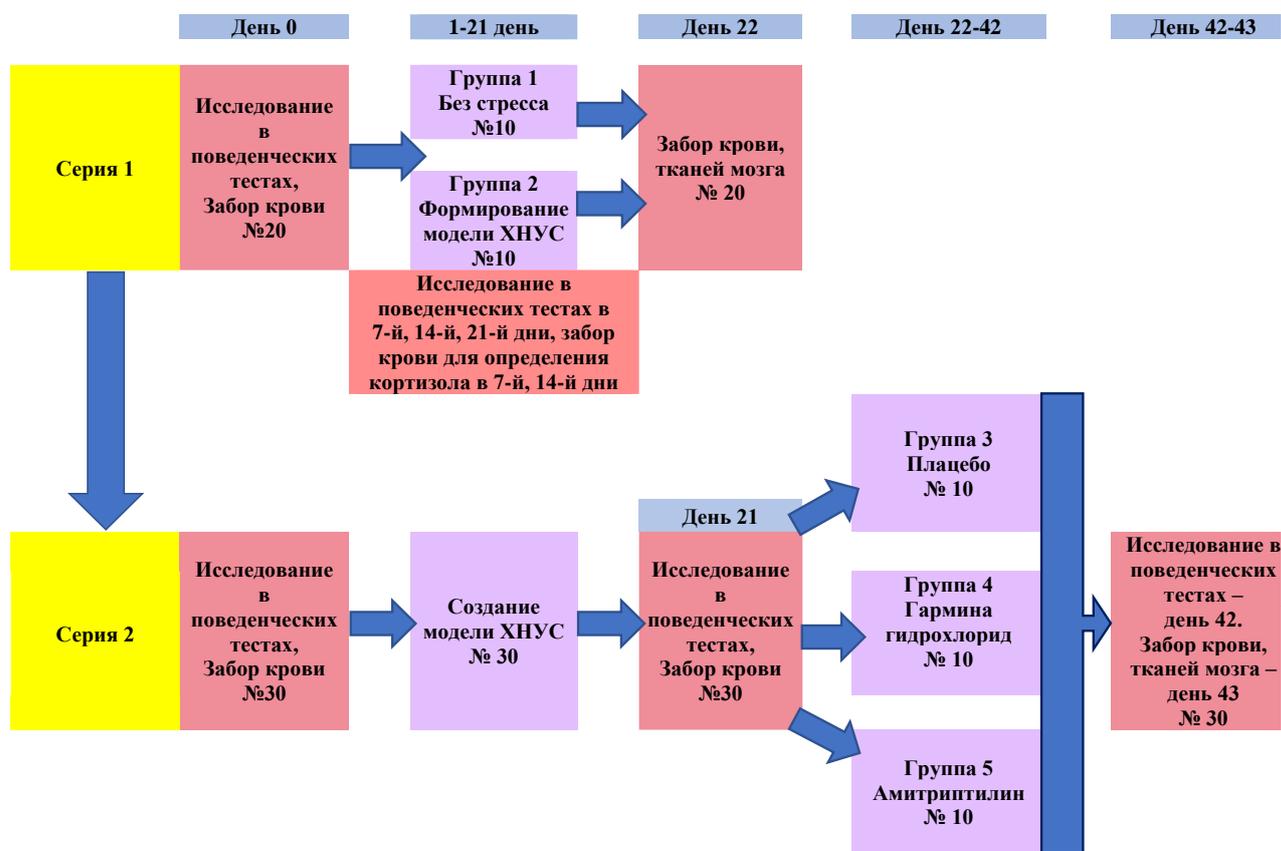


Рисунок 4 – Дизайн исследования

Для эксперимента отобрали беспородных крыс-самцов, с примерно одинаковыми особенностями поведения, активности, темперамента, оценили движение, позы, тонус мышц, внешний вид, состояние кожи, шерсти, выделений из естественных отверстий. Для отбора животных дополнительных тестов не проводилось, во избежание воздействий, выходящих за рамки стандартного отбора животных. Основным методом было наблюдение за поведением во избежание включения в исследование агрессивных животных, склонных к социальному доминированию, заведомо легко подавляемых животных, животных с признаками асоциального поведения, реакции повышенной пугливости на присутствие человека.

Животных содержали в условиях свободного доступа к пище и воде на полном рационе. Масса животных, избранных для эксперимента, составляла 450 – 500 г, возраст 12 месяцев, деление на группы производили рандомизировано. Число крыс в каждой группе составляло 10.

Условия карантинирования и содержания животных до начала эксперимента соответствовали установленным требованиям. Разделение животных на группы, введение препаратов и эвтаназия проводили в соответствии с утвержденными стандартными операционными процедурами. Процедуры карантинирования, формирования модели стресса, оценки в поведенческих тестах проводились на базе вивария АО МНПХ «Фитохимия».

Животные до начала исследования были помещены в отдельное помещение вивария на период адаптации (14 дней). Во время этого периода контролировали отклонения в состоянии здоровья.

При акклиматизации и отборе животных для исследования в карантинные мероприятия включали: первичный контроль лабораторных животных при получении из питомника (клинический осмотр); изоляцию животных для прохождения карантина согласно ветеринарным требованиям; проведение кормовой, физиологической и психологической адаптации лабораторных животных, находящихся в карантине.

Экспериментальное исследование на животных - крысах было представлено в двух сериях.

В первой серии проводилось формирование стресс-индуцированного расстройства с использованием модели ХНУС. Далее проводили оценку поведенческих, биохимических и гистологических показателей. Модель была успешно апробирована для последующего применения. Было получено Свидетельство о внесении в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом №7372 от 30 декабря 2019 года, произведение науки, название объекта «Метод формирования стресс-индуцированных расстройств в эксперименте у животных» представленное в Приложении А [360].

Во второй серии исследования воспроизвели модель ХНУС, после чего животных разделили на 3 группы для последующего проведения терапии с использованием плацебо, гармина гидрохлорида и амитриптилина. Далее проводили оценку поведенческих, биохимических и гистологических показателей.

Все биологические образцы участников каждой серии исследования были закодированы и раскрыты по завершению проведения анализа. Методика кодирования приведена в Приложениях Е, Ж.

2.1.1 Формирование модели стресс-индуцированного расстройства

Применение критериев валидности модели на животных.

Для оценки валидности модели стресс-индуцированных расстройств на животных нами были выбраны следующие критерии:

- Конструктивная (гомологическая) валидность, которая требует выбора адекватных видов с учетом соответствующей высокой либо низкой стрессовой реактивности различных видов животных.

- Внешняя валидность (включая этологическую валидность и валидность биомаркеров), соответствует наблюдаемым поведенческим (этологическая валидность) или биологическим (биомаркерная валидность) результатам.

- Прогностическая валидность (включая валидность индукции и ремиссии) соответствует идентичности связи между провоцирующим фактором и исходом (индукционная валидность) и между эффектами лечения двух организмов (ремиссионная валидность). Указанные критерии валидности были применены в схеме проведения исследования.

- Механистическая валидность, предполагает идентичность у людей и животных когнитивных (например, когнитивные искажения) или биологических механизмов (такие как дисфункция регуляции оси гормонального стресса), лежащих в основе расстройства.

- Патогенная валидность (включая онтопатогенную валидность и триггерную валидность), предполагающая, патологическое воздействие на организм в период развития (например, разделение с матерью: онтопатогенная валидность), либо во взрослом возрасте (например, стресс: пусковая валидность) [349].

С целью формирования СИР использовали модифицированную нами модель ХНУС [349, 358], длительностью 21 день (трехкратный семидневный цикл). Были использованы неповторяющиеся стрессоры умеренной силы, ежедневно сменяющие друг друга в течение 6 дней, на 7 дней, проводился контроль в поведенческих тестах, что также являлось стрессом. Каждый из использованных стрессоров имел определенную модальность направленную на различные факторы функционирования здорового организма для поддержания его гармоничного психоэмоционального состояния.

Были использованы стрессоры:

«Тесная клетка» - ограничение пространства клетки вдвое за счет установки дополнительной перегородки в клетке, влияющее на уменьшение периперсонального пространства животного, активирующие психоэмоциональный компонент дискомфортного состояния крысы,

«Депривация пищи» – лишение пищи на 24 часа вызывает вовлечение в процесс базовой потребности в получении пищи, и ощущение чувства голода, создавая дискомфорт для исследуемых животных, деятельность направленную на поиск пищи, ожидание периода кормления,

«Иммобилизация в пенале» – без ограничения пространства для движения, но не перемещения животные помещались в индивидуальные пеналы. Животные помещались в индивидуальные пеналы, что вызывает ограничение подвижности, противоречащее базовой потребности к перемещению в пространстве, поисково-исследовательской деятельности, при лишении чего повышается уровень тревоги и вызывают дискомфорт.

«Затененность в светлое время суток» – искусственное создание затемнение в течение светового дня, длительностью 15 часов, оказывает влияние на циркадные ритмы, вовлекая ГГН ось и САМ ось,

«Депривация воды» – лишение воды на 10 часов, вызывает вовлечение в процесс базовой потребности в получении жидкости, и ощущение чувства жажды, сопровождающееся изменением общего самочувствия, деятельность направленную на поиск поилки, тревожность при ее отсутствии, и дезориентацию во времени появления поилки в клетке, где в другие дни она присутствует постоянно.

«Искусственная освещенность в темное время суток» – создание искусственного освещения в темное время суток, длительностью 15 часов, оказывает влияние на циркадные ритмы, вовлекая ГГН ось и САМ ось и дезориентацию животного за счет освещенности в обычный период его активности (ночная видовая активность),

«Полная иммобилизация» – помещение животных в индивидуальные пеналы, лишаяющие их возможности двигаться на 2 часа, что прямым образом является стрессором, лишая животных возможности к изменению положения тела, обеспечивание эмоциональное ощущение безвыходности ситуации и телесный дискомфорт.

Виды, использованных стрессоров, их чередование и длительность представлены на Рисунке 5.

Воздействие	Цикл эксперимента						
	День 1	День 2	День 3	День 4	День 5	День 6	День 7
«Тесная клетка»	12.00-08.00 →						Контроль в поведенческих тестах 10.00-16.00
«Депривация пищи»		08.00-08.00 →					
«Иммобилизация в пенале»			10.00-14.00 →				
«Затененность в светлое время суток»				6.00-21.00 →			
«Депривация воды»					8.00-18.00 →		
«Искусственная освещенность в темное время суток»						19.00-10.00 →	
«Полная иммобилизация»							

Рисунок 5 – Схема формирования модели «Хронический непредсказуемый умеренный стресс» у крыс

При формировании модели длительность воздействия была избрана на основании имеющейся информации о биологическом виде экспериментальных животных, допустимых воздействиях, которые крыса может переносить без явного ущерба для себя и уровень воздействия стрессора не повышался до

степени развития острого стрессового расстройства, сохраняя силу воздействия на уровне умеренной.

В данной серии эксперимента участвовали 20 крыс (по 10 крыс в группе).

В группу 1 (группа контроля) включили животных, не подвергавшихся воздействию ХНУС.

В группу 2 (группа ХНУС) включили животных, которые подвергались влиянию указанных стрессоров.

У животных обеих групп проводилась оценка биохимических показателей, поведения и психического состояния.

Оценку поведения и психического состояния животные проходили в поведенческих тестах на 0-й, 7-й, 14-й и 21-й дни эксперимента.

Для проведения биохимических методов исследования проводили забор венозной крови из хвостовой вены крысы четырехкратно. 1-й (до начала эксперимента) и 4-й забор (по завершению создания модели) в объеме, достаточном для анализа всех изучаемых показателей. 2-й и 3-й заборы крови проводили в малом объеме для определения показателей кортизола крови испытуемых. Забор крови проводили в 0-й, 7-й, 14-й и 22-й дни эксперимента с соблюдением правил антисептики. Заключительный забор крови в двух сериях проводили в день эвтаназии (декапитации) с целью уменьшения страданий животных. В 22-й день эксперимента под легким эфирным наркозом проводили декапитацию крыс, головной мозг с мозжечком извлекали, разделяли межполушарно и подготавливали для биохимических и патоморфологических исследований.

2.1.2 Сравнительное изучение эффективности фармакотерапии у крыс с моделью стресс-индуцированного расстройства

После карантинирования и адаптации 30 крыс-самцов до начала серии эксперимента проводили тестирование животных в поведенческих тестах и забор крови.

С 1-го дня эксперимента все 30 крыс подвергались процедуре создания модели ХНУС сроком 21 день, после чего в 21-й день, провели исследование в поведенческих тестах, забор крови и разделили животных на 3 группы путем рандомизации по 10 животных в группе. Мы сформировали группы терапии, в которых группа 3 получала плацебо, группа 4 гармина гидрохлорид, группа 5 амитриптилин. Терапия проводилась с 22 по 42 день эксперимента, в которые животные не подвергались стрессовому воздействию и не проходили тестирования в поведенческих тестах.

С 22-го дня ежедневно в 10.00 крысам индивидуально с помощью атравматичного катетера, удерживая крысу в мягком полотенце, перорально вводили плацебо, гармина гидрохлорид или амитриптилин из расчета 4,5 мг/кг для гармина гидрохлорида и 4,5 мг/кг для амитриптилина индивидуально.

Расчет дозировки:

Согласно рекомендациям производителя, в схеме приема препарата гармина гидрохлорид, для человека суточная доза составляет 50 мг. Расчет на кг массы тела производится по формуле (1)

$$50\text{мг}/70\text{кг} = 0,715 \text{ мг}/\text{кг} \text{ (человек массой 70 кг)} \quad (1)$$

Пересчет человеческой дозы в мг/кг на дозу в мг/кг для введения крысам производится согласно формуле (2).

$$X_m = X / (BSA - CF) \quad (2)$$

Где

X_m – эквивалентная доза в пересчете на крысу;

X – человеческая эквивалентная доза в мг/кг;

$(BSA - CF)$ – фактор превращения (коэффициент пересчета), специфичный для крысы, равный 0,160 [361];

Таким образом расчет $0,715/0,160 = 4,469$ мг/кг массы крысы или 0,4469 мг/100 г массы крысы (около 2,2345 мг/крысу массой 500 г).

Препаратом сравнения в исследовании выбрали amitriptilin, который является одним из препаратов стандарта в лечении стрессовых расстройств, депрессивных расстройств в случае наличия признаков их эндогенности, тревожно-депрессивных состояниях. Amitriptilin рекомендуется применять в дозе 75-150 мг в сутки внутрь и до 60 мг в сутки парентерально. Внутрь – в течение стационарного пребывания; парентерально – не более 10–12 дней. Высокая степень изученности эффектов и малая длительность приема препарата при высокой и быстрой эффективности определяет данный препарат как эталонный при проведении исследований психотропной активности.

Согласно рекомендациям, начальная доза приема препарата amitriptilin 25–50 мг. При использовании схемы без повышения дозировки препарата за оптимальную была принята дозировка 50 мг. Схема расчета аналогична расчету дозировки для гармина гидрохлорида и составляла 4,5 мг/кг. В нашем исследовании использовались препараты «Amitriptilin» - таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 0,025 г, № 50 в упаковке, № 50, Zentiva, производство – Словацкая Республика, серии 3120916, срок годности 09/2018 – 08/2021 РК-ЛС-5-005488 и «Гармина гидрохлорид», капсулы, 0,025 г, код лекарственного препарата N04, разработчик и производитель «МНПХ «Фитохимия», Казахстан, Караганда.

Согласно рекомендациям, время, необходимое для начала терапевтического действия и купирования побочных эффектов коммерчески доступных антидепрессантов, составляет 2 недели. Три недели являются оптимальными для получения начального необходимого эффекта.

В 42 день все животные прошли исследование в поведенческих тестах, в 43 день был произведен забор крови в объеме достаточном для определения всех исследуемых показателей. После, под эфирным наркозом крысы были декапитированы, головной мозг с мозжечком извлекли, разделили межполушарно и подготовили для биохимических и гистологических исследований. Процедура 2-й серии эксперимента представлена на рисунке 6.

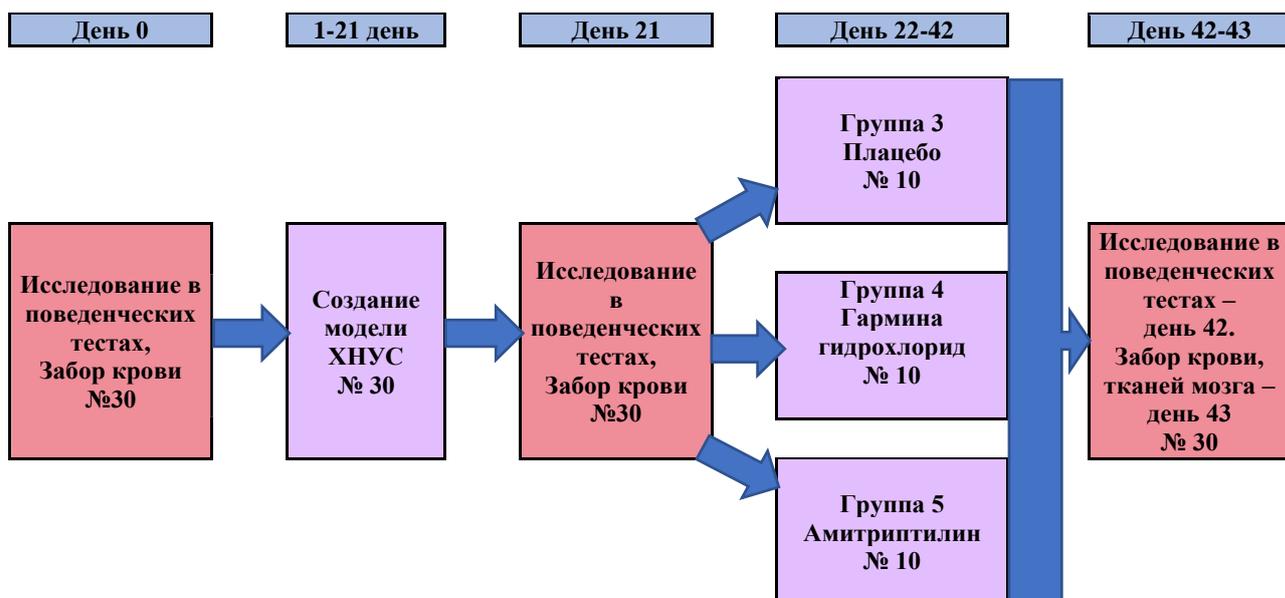


Рисунок 6 – Схема проведения эксперимента с формированием модели «Хронический непредсказуемый умеренный стресс» и последующей терапией в трех группах со сроками контроля и воздействием

Этические нормы:

Исследование проведено в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях (Страсбург 1986 г.), требованиями GLP OECD, Правилами надлежащей лабораторной практики ЕАЭС №81, приказ МЗСР РК №392 от 25 мая 2015 года. Исследование было одобрено решением Комитета по биоэтике «Медицинского университета Караганды» решением № 65, протокол №20 от 17.06.2019, Письмом-заключением Локальной комиссии по биоэтике НАО «Карагандинский медицинский университет» (присвоенный № 65–1 от 17.06.2019), (протокол № 15 от 08.10.2024).

2.2 Материалы исследования

В двух сериях исследования материалами исследований являлись кровь и головной мозг крыс. Забор венозной крови у крыс проводили из хвостовой вены после предварительной очистки покровов, путем венесекции в эпендорфы объемом 2 мл, со стабилизацией крови гепарином.

После декапитации и извлечения мозга животного его межполушарно разделяли острым методом и $\frac{1}{2}$ помещали в 10% забуференный раствор нейтрального формалина для дальнейшей проводки и гистологического исследования.

Для биохимических исследований мозг промывали физиологическим раствором, осушали фильтровальной бумагой, после разрезали на мелкие кусочки и заливали жидким азотом для сохранения нативных свойств ткани. Транспортировали и хранили в морозильной камере при температуре -18°C .

Забор крови и мозга осуществлялся на базе лабораторного отделения при виварии АО МНПХ «Фитохимия», где стабилизировались и в течение часа доставлялись в лабораторию кафедры биохимии и патоморфологии НАО «МУК».

2.3 Методы поведенческой оценки в эксперименте

Исследование в поведенческих тестах проводили в день, предшествующий эксперименту и после еженедельно (каждый 7-й день с первого дня начала эксперимента). Эксперименты до декапитации также завершали испытаниями в поведенческих тестах. Применение нескольких тестов использовали, основываясь на особенностях реакции крыс на различные стимулы и рефлекторное предпочтение крысами темных мест, замирание, груминг, вегетативные реакции (учащение/урежение мочеиспускания и дефекации), как симптом тревоги. Такие показатели, как свешивания с рукавов, стойки, перемещение, длительное пребывание на освещенных открытых местах характеризуют ориентировочно-исследовательскую деятельность животных удовлетворительного уровня. Проявления депрессивной направленности, характеризующиеся иммобилизацией, малой подвижностью и ангедогией. Комбинация тестов различной направленности позволяет выявить большее число психологических паттернов у испытуемых животных, ввиду различных их психотипов и поведенческих реакций.

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Применяется классически в изучении психотропных эффектов различного вида воздействий, для оценки психического состояния животных. Тест основан на избирательности крысами темного пространства и боязни высоты [362, 363]. Оценка тревожности основывалась на регистрации показателей в результате стресса при помещении на возвышенное, освещенное пространство:

- Длительности пребывания в темных рукавах (ДПТР) (секунды),
- Длительности пребывания в светлых рукавах (ДПСР) (секунды),
- Количестве посещений темных рукавов (КПТР),
- Количестве посещений светлых рукавов (КПСР),
- Длительности посещений центра (ДПЦ) (секунды),
- Количестве стоек (Стойки),
- Количестве свешиваний с рукава (Свешивания),
- Уринации,
- Дефекации.

Тест производили в течение 5 минут с использованием стандартной установки «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Тест «Открытое поле»

Тест «Открытое поле» был предложен С.S. Hall (1936) для регистрации поведения животных в ответ на «новые, потенциально опасные стимулы» [364]. Тест является информативной методикой с оценкой двигательной и ориентировочно-исследовательской активности. Уровень стресса животных характеризуется их замиранием в ответ на новые, потенциально опасные

стимулы. Классическая методика основана на конфликте инстинктивной тенденции к исследованию нового окружения и минимизации их вероятной опасности. Исследование является информативной методикой, позволяющей адекватно оценивать психотропные эффекты повреждающих факторов окружающей среды [365]. Производили регистрацию:

- Количества горизонтальных перемещений (КГП),
- Вертикальной двигательной активности (ВДА),
- Груминга (Гр),
- Количества дефекаций (КД),
- Количества уринаций (КУ).

Длительность проведения теста 5 минут, при ярком освещении [427].

Тест «Подвешивание за хвост»

Тест основан на чувстве «вынужденной беспомощности или отчаяния». Крыса совершает попытки освободиться из непривычного для нее положения, однако через время крыса смиряется на определенное время с положением, в котором находится и предпринимает попытки снова изменить ситуацию.

Крыса, подвешенная за хвост с помощью куска клейкой ленты на высоте 35 см от поверхности стола, инстинктивно пытается освободиться из этой неприятной ситуации. Однако после неудачных попыток сбежать испытуемые начинают демонстрировать поведение отчаяния и висят неподвижно в подвешенном состоянии. Отмечается, что выраженность отчаяния, определяемая неподвижностью, прямо зависит от стрессовых расстройств у испытуемых, их психотипа и значительно снижается при приеме антидепрессантов. Методика позволяет проводить быструю оценку психотропных эффектов лекарственных препаратов (антидепрессантов, седатиков), благодаря чему тест стал классической и безболезненной альтернативой при исследованиях тревожных состояний и депрессии [366]. Производили регистрацию:

- Латентного периода иммобилизации (ЛПИ) (секунды)
- Суммарной иммобилизации (СИ) (секунды)

Тест проводили 6 минут, где иммобилизацией считалась длительность неподвижности более двух секунд.

Тест «Предпочтение сахарозы»

Основанный на предпочтении потребления подслащенной сахарозой жидкости (10%-ного раствора) тест, позволяет составить представление о питьевой мотивации и гедонических расстройствах крыс. Ангедония подтверждается снижением потребления жидкости, и в особенности подслащенной воды. Тест проводится в общей батарее поведенческих тестов, как пример – с 17 часов 6-го дня, до 10 часов утра 7-го дня, когда производилось определение потребленной жидкости в двух поилках фиксированного объема с обычной водой и 10%-ным раствором сахарозы. Регистрировали:

- Суммарное потребление жидкости (сахароза + вода),

- Процент потребления раствора сахарозы от общего объема выпитой жидкости в группах крыс за 17 часов [49, 367].

Во время проведения теста «Предпочтения сахарозы» и оценки потребления жидкости животные не подвергались никаким стрессогенным воздействиям. В первой серии произвели 4 тестирования, начиная с момента до начала эксперимента. Во второй серии эксперимента провели 7 тестирований.

2.4 Биохимические методы исследования

Подготовка гомогената головного мозга

Мозг промыли 0,9%-ным раствором NaCl, измельчили на мелкие кусочки и залили жидким азотом для сохранения его нативных характеристик до проведения биохимического анализа. Мозг хранили в морозильной камере при температуре -18°C . В день использования образцы замороженных тканей быстро взвешивали и гомогенизировали 1:10 в охлажденном льдом фосфатно-солевом буфере. Затем гомогенаты центрифугировали при $14000\times g$ в течение 15 мин при 4°C . Супернатанты отделяли и использовали для определения показателей реактивных карбонильных производных белков, малонового диальдегида и каталазной активности. Полученные образцы были после предварительной обработки согласно рекомендованным методикам, были подвергнуты спектрофотометрическому анализу с использованием PD-303UV digital UV-VIS spectrophotometer, manufactured by APEL, Japan.

Подготовка плазмы и эритроцитов крови.

Стабилизировали кровь гепарином. Кровь доставляли в лабораторию кафедры биологической химии НАО «МУК» в течение часа в мобильном холодильнике. Для определения МСГ использовали цельную кровь. Плазму крови от эритроцитов отделяли путем центрифугирования, при 3000 оборотах в минуту в течение 10 минут. После эритроцитарную массу для исследования отмывали дважды трехкратным объемом физиологического раствора.

2.4.1 Определение активности каталазы в мозге крыс

Метод Аebi (1984) использовали для определения активности каталазы в гомогенате ткани головного мозга. Сначала гомогенат инкубировали в реакционной смеси, которая содержала 0,1 мл гомогената и 0,85 мл калий-фосфатного буфера (50 мМ и рН 7,0) при комнатной температуре в течение 10 минут. Затем реакцию начинали добавлением 0,05 мл H_2O_2 (30 мМ, приготовленного в калий-фосфатном буфере 50 мМ и рН 7,0). Уменьшение поглощения регистрировали спектрофотометром при возбуждении 240 нм в течение 3 мин. Удельную активность каталазы (КА) рассчитывали как 1 мкмоль H_2O_2 разложившейся ед. / мг белка [368].

2.4.2 Определение малонового диальдегида в ткани мозга, эритроцитах и плазме крови

Определение МДА в мозге крыс

Переокисное окисление липидов определяли путем количественного определения веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (Ohkawa et al.,

1979) [369]. Одну аликвоту (75 мкл) гомогенизированной ткани ($0,1 \pm 0,005$ г на мл воды) разбавляли трис-НСl-буфером, рН 7,4 (175 мкл; 0,15 М). После 0,5 ч инкубации при 37° С добавляли 500 мкл тиобарбитуровой кислоты (0,3% (вес / объем)), растворенной в трихлоруксусной кислоте (15% (вес / объем)). Затем образцы кипятили в течение 1 часа и центрифугировали при 6000 об / мин в течение 15 минут. Уровень перекисного окисления липидов выражается в мкмоль / мг белка MDA при 540 нм [370, 371].

Определение малонового диальдегида в эритроцитах крыс

MDA в эритроцитах определяли по протоколу Гончаренко М.С. и Латыповой А.М. [372, 373]. Для определения MDA эритроциты промывали 10 мл охлажденного физиологического раствора, затем центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Отмытые эритроциты гемолизировали дистиллированной водой в соотношении 1:5. Для исследования брали 0,3 мл гемолизата, добавляли 0,3 мл 10% фосфорно-вольфрамовой кислоты и через 10 мин центрифугировали образцы при 3000 об/мин в течение 10 мин. Образовавшийся осадок промывали 1 мл дистиллированной воды и еще раз центрифугировали. Затем к осадку добавляли 3 мл воды и 1 мл тиобарбитуровой кислоты (80 мг ТВК в смеси 5 мл воды и 5 мл уксусной кислоты) и инкубировали 60 мин на кипящей водяной бане. Наконец, раствор центрифугировали и тестировали на поглощение на спектрофотометре, установленном на 532 нм, против бидистиллированной воды. В расчетах использовали молярный коэффициент экстинкции, равный $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, выраженный в мкмоль/мл [372, 373].

Определение малонового диальдегида в плазме крови крыс

Продукты ПОЛ были измерены в фильтрате трихлоруксусной кислоты и в осадке липопротеинов с помощью спектрофотометрии и флуориметрии по протоколу Коробейниковой Э.Н. [374].

Оптимальные условия для спектрофотометрии ТВК-активных продуктов ПОЛ следующие: белки осаждают 20% -ным раствором фосфорновольфрамовой кислоты, стабилизирующим значения рН в диапазоне 1,3–1,5; температура инкубации 99–100 градусов С; оптическую плотность водного экстракта измеряют спектрофотометрически при длинах волн 535 и 580 нм. Предлагаемый метод позволяет проводить спектрофотометрию продуктов ПОЛ без дополнительной экстракции бутанолом, и его результаты сопоставимы с результатами флуориметрии. При расчете использовался молярный коэффициент экстинкции ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); единицы измерения - мкмоль / мл [374].

2.4.3 Определение реактивных карбонильных производных белков в ткани мозга, эритроцитах и плазме крови

Определение РКПБ в ткани мозга крыс

Концентрацию РКПБ измеряли в соответствии с проверенным протоколом Арутюняна А. и соавторов (2000) [375]. Метод оценки основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-

динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, регистрируемых спектрофотометрически. Для осаждения нуклеиновых кислот, способных заведомо повышать уровень карбонильных соединений, использовали 1%-ный раствор стрептомицина сульфата. К 1 объему раствора стрептомицина сульфата добавляли 9 объемов гомогената мозга и оставляли на 15 мин, затем центрифугировали в течение 10 мин и использовали для анализа надосадочную жидкость [375].

Полученный материал разделяли на 2 равные части. В опытную пробу добавляли 0,5 мл 10 мМ раствора 2,4 – динитрофенилгидразина в 2 М растворе HCl, в контрольную - то же количество 2 М раствора HCl. Пробы оставляли при комнатной температуре в течение 1 ч, периодически встряхивая каждые 10 — 15 мин. Затем в обе пробы добавляли по 0,5 мл 20% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и центрифугировали при 11 000 g, декантировали надосадочную жидкость, и осадок трижды промывали 1 мл смеси этанола с этилацетатом (1:1) с целью устранения непрореагировавшего 2,4 – динитрофенилгидразина и примесей липидов. Осадок растворяли в 0,6 мл раствора гуанидина. Для устранения нерастворимых компонентов жидкость центрифугировали в течение 3 мин. Количество образовавшихся 2,4-ДНФ-гидразонов регистрировали при максимальной адсорбции (длина волн 370 нм) против контрольной пробы. Концентрацию РКПБ рассчитывали, используя молярный коэффициент поглощения 22000 моль⁻¹см⁻¹, значения РКПБ даны в нмоль/мл [375].

Определение РКПБ в эритроцитах и плазме крови крыс

Карбониловые производные белков (КПБ) определяли по методу Levine R.L и соавторов [376].

В пробирки вносили 0,1 мл эритроцитарной массы, добавляли 0,5 мл 20% трихлоруксусной кислоты и 0,5 мл 0,1М HCl 2,4-динитрофенилгидразина. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 50 минут. Далее центрифугировали 5 минут при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали, к осадку добавляли смесь этанол – этилацетат (1:1) в объеме 0,5 мл, взвесь перемешивали и центрифугировали 3 минуты при 3000 об/мин. Экстракцию липидов из осадка этанол-этилацетатной смесью повторяли 2 раза. Осадок, лишенный липидов, высушивали в термостате при 37°C в течение 18 часов. Далее осадок растворяли в 2 мл 8М раствора мочевины. Регистрацию карбониловых производных белков проводили спектрофотометрически при длине волны 370 нм [376]. Расчет концентрации карбониловых производных белков производили по формуле (3) [377]:

$$C = E/0,1155, \quad (3)$$

Где E – экстинкция полученного раствора карбониловых фенилгидразонов против дистиллированной воды.

2.4.4 Определение показателей пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови

Уровень пуриновых оснований – гуанина (Г), аденина (А), гипоксантина (Гк), ксантина (К) и мочевой кислоты (МК) определяли прямой спектрофотометрией по методу Е.В. Орешникова и соавторов и выражали в единицах экстинкции [378, 379].

Катаболиты пуринового обмена в предварительно отмытых эритроцитах крови определяли аналогичным методом.

В стандартную стеклянную пробирку вносили 0,3 мл плазмы (отмытых эритроцитов) крови. Затем проводили термокоагуляцию на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Обязательным условием являлось активное кипение во избежание дефрагментации коагулянта. После остывания при комнатной температуре в течение нескольких минут в пробирку наливали 3 мл бидистиллированной воды. Через 30 мин инкубации при 37°C измеряли экстинкцию экстракта против чистого экстракта (бидистиллированная вода) в кювете с длиной оптического хода 10 мм. При этом исходили из того, что экстинкции на волнах 246, 250, 261, 276 и 293 нм. соответственно отражают концентрации в плазме и эритроцитах крови гуанина, гипоксантина, аденина, ксантина и мочевой кислоты. Концентрацию пуриновых оснований выражали в единицах экстинкции (ед. экст.), МК — в мкмоль/л и рассчитывали по формуле (4) [378, 379].

$$C = E * 1000 \quad (4)$$

Где

C – концентрация метаболитов пуринового обмена, ед. экст. (мкмоль/л);
1000 – коэффициент пересчета экстинкции в концентрацию.

Кроме того, оценивали активность фермента ксантинооксидазы, являющегося ключевым ферментом окисления пуринов на разных этапах ее работы. С этой целью во всех представленных группах рассчитывались индексы ксантин/гипоксантин (1 этап), мочевая кислота/ксантин (2 этап) и мочевая кислота/гипоксантин (оба этапа). Увеличение рассчитываемых индексов свидетельствует о высокой активности фермента, уменьшение – о низкой. Также проводился расчёт отношения ксантина к гуанину, являющегося показателем тяжести гипоксии (ПТГ). Снижение данного показателя происходит в условиях дефицита кислорода и свидетельствует о наличии гипоксии [378, 379].

В качестве индикатора интенсивности пуринового обмена (ИПО) рассчитывали величину, представляющую собой отношение концентрации гипоксантина к количеству образующихся из него продуктов: ксантина и мочевой кислоты - и определяющую необратимость катаболизма пуринов по формуле 5 [378].

$$\text{ИПО} = \frac{[\text{ГК}]}{[\text{К}] + [\text{МК}]} \quad (5)$$

2.4.5 Определение мембраносвязанного гемоглобина в эритроцитах крови

Содержание мембраносвязанного гемоглобина в эритроцитах определяли по методу Токтамысовой З.С. и Биржановой Р.Х. [380].

Пробы для спектрофотометрического анализа готовили путем центрифугирования гемолизата эритроцитов в течение 20 минут при 3000 об/мин. Определение оптической плотности растворов производили до центрифугирования и после центрифугирования. Содержание гемоглобина определяли при длине волны 575 нм, содержание метгемоглобина - при 630 нм. Изменение концентрации гемоглобина и метгемоглобина в растворах после центрифугирования выражали в виде процентного отношения, что соответствует мембранно-связанному гемоглобину [380].

2.4.6 Определение метилглиоксаля в эритроцитах крови

Метилглиоксаль оценивали в отмытых эритроцитах по модифицированной методике Racker [381]. Двадцать пять мкл образцов сыворотки добавляли к 350 мкл ДНФГ [0,1% ДНФГ в 2N HCl]. Затем в каждую пробирку добавляли 2,125 мл дистиллированной воды. Затем его инкубировали в течение 15 минут при 370 °С. После инкубации добавляли 1,5 мл 10% NaOH и измеряли оптическую плотность при 576 нм с помощью спектрофотометра. Уровни МГ выражаются в процентах абсорбция (%) МГ [382].

2.4.7 Определение кортизола в плазме крови

Проводили с использованием стандартных наборов реагентов для количественного иммуноферментного определения кортизола High Sensitive ELISA Kit for Cortisol (Cor) предназначенного для всех видов организмов. Типы образцов: сыворотка, плазма, моча и другие биологические жидкости. Применяли для плазмы крови человека и крыс, согласно прилагаемой инструкции. Чувствительность: 31.33 пг/мл, Диапазон определения: 68.59–50000 пг/мл. Точность внутри набора: 3 образца с низким, средним и высоким уровнем антигена тестировались 20 раз на одном планшете: CV<10%. Точность между наборами 3 образца с низким, средним и высоким уровнем антигена тестировались на 3 планшетах по 8 повторений: CV<12%. Сертификация: ISO13485:2016 / ISO9001:2015. Производитель: Cloud-Clone Corp.

Исследование проводили на базе лаборатории коллективного пользования Медицинского университета Караганды с использованием системы BIO-RAD Evolis, версия 2.00.1 на длине волны 450 нмоль/л.

2.5 Патоморфологические методы исследования

После завершения эксперимента в выделенных опытных группах согласно установленным срокам и выделенным сериям проводили забор материала головного мозга для гистологического исследования и фиксировали полученный материал в забуференном 10% растворе нейтрального формалина с соответствующей маркировкой как представлено на рисунке 7 а и 7 б.



а

б

Рисунок 7 – Извлеченный после декапитации мозг (а) и мозг в забуференном формалине (б)

В дальнейшем материал проводили по общеизвестной гистологической методике с заливкой материала в парафин-воск. [383].

Гистологический материал проводили с использованием автоматического тканевого процессора фирмы Leica TP1020. Парафиновые срезы изготавливали на санном микротоме Leica SM 2000R толщиной 5–6 микрон. Для обзорного исследования гистологической картины материал окрашивали гематоксилином и эозином согласно Таблице 5, с использованием процессора для окраски срезов автостейнер KD-RS.

Таблица 5 – Методика окраски гематоксилином и эозином

№	Реагент	Процесс
1	Дистиллированная вода	Ополоснуть
2	Раствор гематоксилина	1–20 мин
3	Солянокислый спирт	Дифференцировка
4	Аммиачная вода	Срезы синеют (контроль под микроскопом)
5	Проточная вода	5–10 мин
6	Дистиллированная вода	Ополоснуть
7	Раствор эозина	10 сек – 3 мин
8	Спирт 96%, карбол-ксилол, заключение	Предметные стекла покрываются покровным стеклом

В результате проведения данной методики окраски ядра окрашиваются в синий, цитоплазма и межклеточное вещество в розовый цвет. Оценка морфологической картины изучаемого материал проводилось на компьютеризированном микроскопе с цифровым микрофотографированием гистологических препаратов с использованием камеры «Leica DFC320» и микроскопа «Leica DM1000» фирмы «Leica Microsystems» при X100, X200, X400 и 1000-кратном увеличении, представленных на Рисунке 8. Гистологическое исследование проводили на базе учебно-научной патоморфологической лаборатории кафедры патологической анатомии НАО «МУК».

Морфологическое исследование проводили простым слепым методом, каждая группа исследования получило цифровое обозначение. После гистологического описания провели расшифровку групп и осуществили сравнительный анализ морфологической картины каждой группы эксперимента.



Рисунок 8 - Микроскоп компьютеризованный «Leica Microsystems», микроскоп Leica DM 1000

2.6 Статистические методы исследования

Расчет объема выборки проводился на основании статистических исследований на основе подхода Монте-Карло с цепями Маркова, согласно которым для экспериментальных пилотных исследований количество животных при оценке количественных данных составляет 5-6 особей, для качественных данных – 8 особей [384]. В исследовании использованы количественные данные, проведена поправка на возможную убыль животных и увеличения для повышения мощности, что обусловило группы животных включающих 10 особей [384].

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы Microsoft office 356 Excel, программ STATISTICA 7 и IBM SPSS.Statistics.v22.Multilingual-EQUiNOX (SPSS Inc) с учетом вычислительных методов непараметрической статистики, рекомендуемых для изучения статистической значимости различий независимых количественных показателей в малых выборках с ненормальным распределением.

Проверка нормальности распределения проводилась графическим методом по гистограммам и квартильным диаграммам и количественным методом при оценке критерия Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Согласно исследованиям, результаты которого были применены при расчете нормальности распределения на используемой нами выборке – по 10 крыс в группе, мощность критериев Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова,

Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Андерсона-Дарлинга имеет одинаковую мощность [385].

Средние тенденции описывались как среднее \pm среднеквадратичное отклонение или медианами и квартилями в зависимости от типа распределения. Сравнение показателей в зависимых выборках до и после эксперимента в двух группах первой серии проводили с использованием Т – критерия Уилкоксона, для уровня значимости $\alpha=0,05$. Отображение динамики параметров проводилась графическим методом при помощи диаграмм размаха.

Множественные сравнения (р-уровни) уровня кортизола до и после эксперимента в двух группах проводили с использованием Н Критерия Краскела-Уоллиса. Для сравнения показателей кортизола в группах 1-й серии использовали непараметрический Критерий Фридмана. По результатам проведенного анализа выявили наличие статистически значимых различий ($p=0,00003$) в уровне кортизола в зависимости от номера забора крови. Для попарного сравнения уровня кортизола в четырех заборах крови, использовали непараметрический критерий Уилкоксона с поправкой Бонферрони (скорректированный уровень значимости $\alpha=0,013$).

Сравнение показателей в независимых выборках до и после эксперимента в двух группах первой серии проводили с использованием U – критерия Манна-Уитни, для уровня значимости $\alpha=0,05$.

Во второй серии параметры были представлены на основании медиан, а множественные сравнения (р-уровни) показателей до начала эксперимента, после создания модели ХНУС, после 1,2 и 3 лечения проводили с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса, для уровня значимости $\alpha=0,05$.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оценка валидности модели ХНУС при формировании стресс-индуцированного расстройства у крыс.

Исследования, соответственно критериям валидности проводили на животных с высокой стрессорной и поведенческой реактивностью (критерий конструктивности – гомологичности), наблюдением изменения поведения и биомаркеров (внешняя валидность), с последующей оценкой влияния воздействия различного рода (стресс, терапия) (прогностическая валидность), в соответствии с идентичностью регуляции оси гормонального стресса, лежащего в основе расстройства (механистическая валидность), подвергали стрессорному воздействию умеренной силы (патогенная – пусковая валидность), на 50 животных в двух этапах – по 20 и 30 животных в каждом.

3.1.1 Анализ результатов оценки в поведенческих тестах у крыс

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Сравнение показателей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» до и после эксперимента в группе контроля (группа 1) и группе ХНУС проводили с использованием Т – критерия Уилкоксона, для уровня значимости $\alpha=0,05$. Результаты проведения теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» для животных группы 1 приведены в таблице 6.

Как следует из данных таблицы 6 после проведения эксперимента в 1-й группе исследуемых животных отмечалось статистически значимое увеличение показателей ДПТР ($p=0,017$) на 12,3%, снижение ДПЦ ($p=0,028$) на 53, 3%, КПСР ($p=0,028$) на 50%, КПТР ($p=0,028$), на 75% и свешиваний ($p=0,018$) на 75%. При этом показатели снижения ДПСР ($p=0,314$) на 20,8% и уринаций ($p=0,063$) на 100% и увеличения дефекаций ($p=0,345$) не показали статистической значимости.

Таблица 6 – Результаты проведения теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» для животных группы 1

Показатель	Группа 1 до эксперимента, n=10			Группа 1 после эксперимента, n=10			P-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
ДПСР	24	9	40	19	0	27	0,314
ДПТР	239	209	247	268	260	274	0,017*
ДПЦ	30	22	41	14	3	20	0,028*
КПСР	2	1	2	1	0	1	0,028*
КПТР	4	2	6	1	1	1	0,028*
Стойки	0	0	0	0	0	0	
Свешивания	4	0	6	1	0	2	0,018*
Уринации	1	0	1	0	0	0	0,063
Дефекации	0	0	0	1	0	3	0,345

Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$

Необходимо отметить, что расчеты стоек, дефекаций и уринаций в расчетах не могут быть критично проанализированы ввиду низкого уровня абсолютных показателей.

Диаграмма размаха в 1 группе подтверждает полученные результаты и графически демонстрирует уменьшение размаха ДПТР и ДПЦ, их величин со уменьшением дисперсии как отражено на рисунке 9. В то же время ДПТР увеличивается, уплотняется ее размах, расширяется дисперсия, направленная в сторону уменьшения показателей.

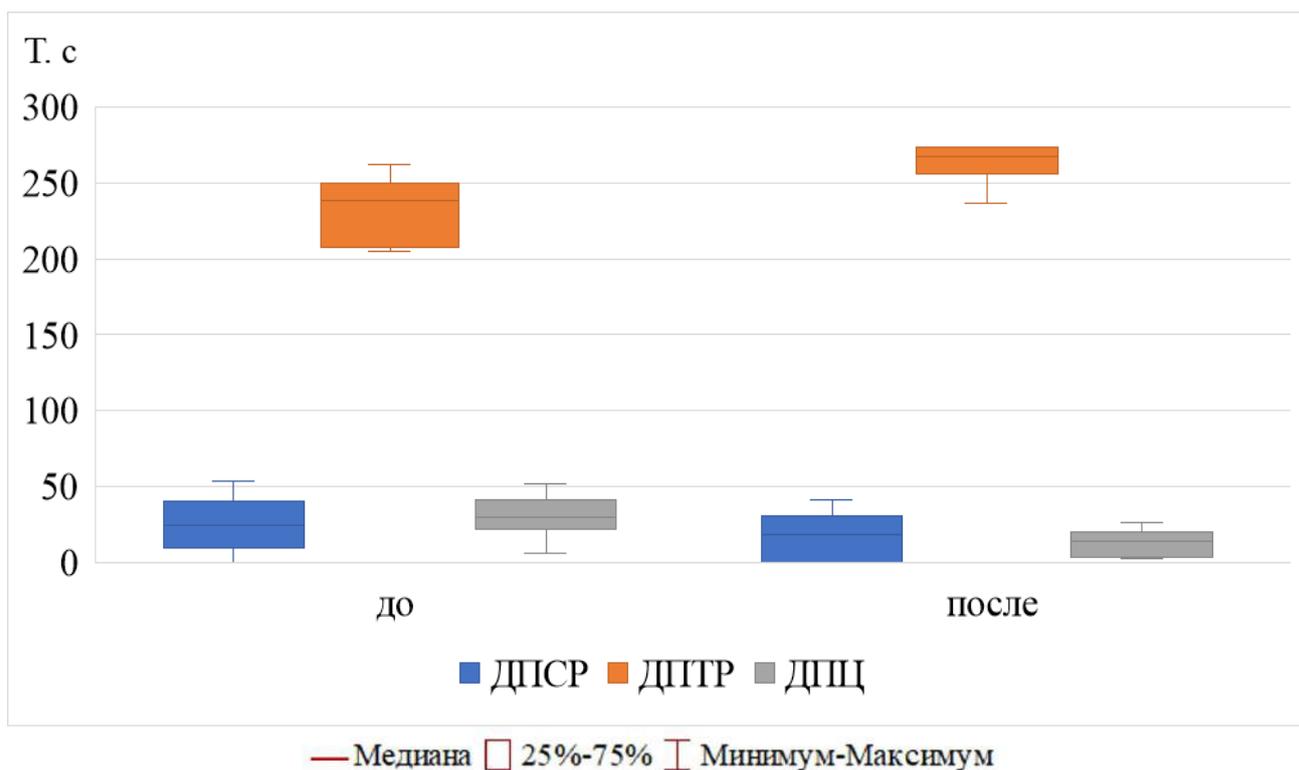


Рисунок 9 – Сравнительная характеристика изменений ДПСР, ДПТР, ДПЦ в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в 1 исследуемой группе до и после эксперимента

По результатам проведенных расчетов в группе 1 поведенческие изменения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» характеризуются адапционным типом поведения по сумме признаков без выраженных изменений поведения, характерных для стрессового расстройства. Животные 1 группы следуют инстинкту предпочтения темных мест, умеренно снижают длительность пребывания в светлых рукавах, при этом уменьшая количество перемещений между светлыми и темными рукавами, уменьшилось количество выполнений свешиваний, что характеризует развитие адапционного процесса и повышении степени эмоциональной напряженности. В то же время отмечается отсутствие стоек как до, так и после эксперимента, что может характеризовать особенности темперамента крыс данной группы. При этом не отмечалось значимого увеличения количества уринаций и дефекаций, что позволяет сделать предположение о закономерно развивающейся адаптации.

Результаты проведения теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» для животных группы 2 подвергшихся ХНУС приведены в таблице 7, которые демонстрируют статистически значимые изменения до и после формирования модели ХНУС, отличные от животных 1 группы.

По данным таблицы 7 после проведения эксперимента в группе животных с моделью ХНУС (группа 2) отмечалось статистически значимое значительное снижение показателей ДПСР ($p=0,025$), на 100%, КПСР ($p=0,043$) на 100%, стоек ($p=0,018$) на 100%, количества уринаций ($p=0,008$) и дефекаций ($p=0,021$) на 100%, достигая нулевых показателей и увеличение ДПТР ($p=0,013$) на 32% (в1,32 раза). Не показали статистической значимости показатели ДПЦ ($p=0,114$), уменьшающиеся на 42%, КПТР ($p=0,673$), сохраняющиеся без изменений, и количество свешиваний ($p=0,051$) со снижением на 75%.

Таблица 7 – Результаты проведения теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» для животных группы 2

Показатель	Группа 2 до эксперимента, n=10			Группа 2 после эксперимента, n=10			Р-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
ДПСР	44	0	62	0	0	11	0,025*
ДПТР	211	208	264	279	276	280	0,013*
ДПЦ	19	8	29	11	2	13	0,114
КПСР	2	0	2	0	0	1	0,043*
КПТР	2	1	3	2	1	3	0,673
Стойки	2	0	7	0	0	0	0,018*
Свешивания	4	2	10	1	0	4	0,051
Уринации	2	1	2	0	0	0	0,008*
Дефекации	2	1	3	0	0	0	0,021*
Примечание –* Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$							

Диаграмма размаха согласно рисунку 10, подтверждает полученные результаты во 2 группе и графически демонстрирует значительное уменьшение размаха ДПСР и ДПТР, меньшее ДПЦ со смещением дисперсии ДПЦ в сторону увеличения, ее уплотнением и уменьшение ДПСР и ДПТР с уплотнением размаха, снижением показателей и величины дисперсии.

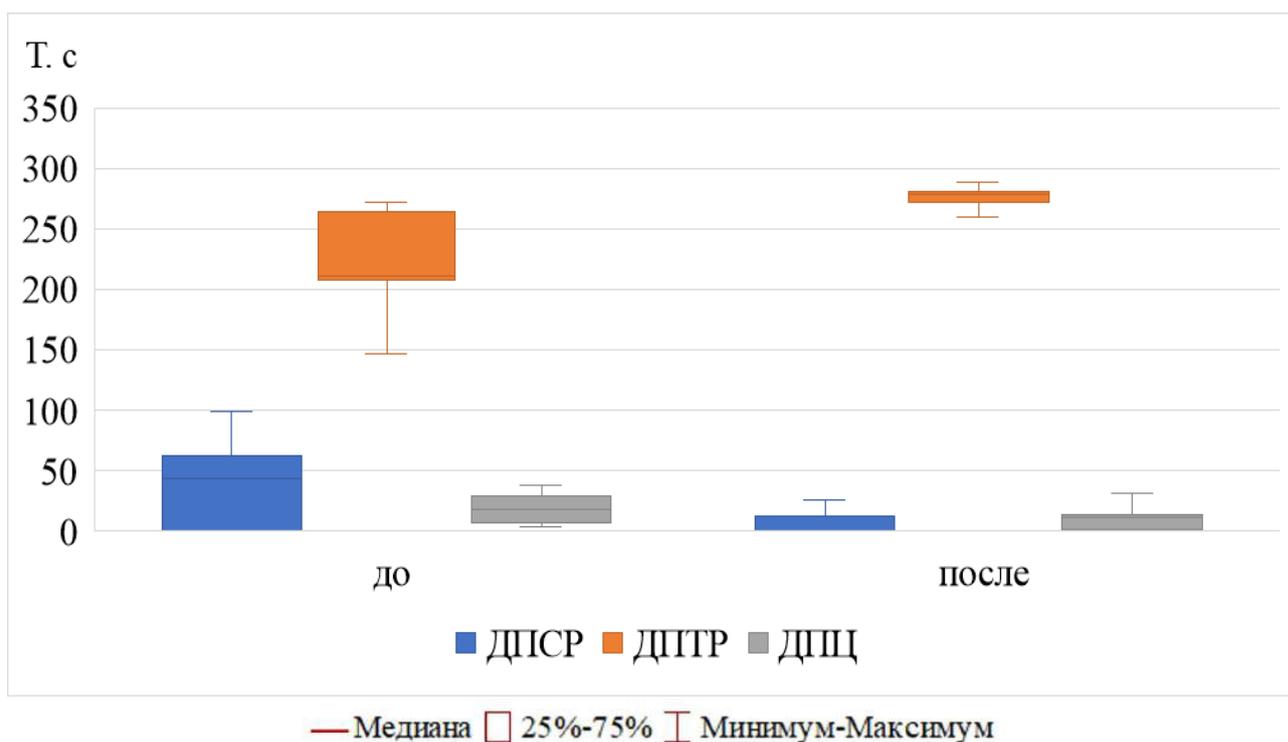


Рисунок 10 – Сравнительная характеристика изменений ДПСР, ДПТР, ДПЦ в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» во 2 исследуемой группе до и после эксперимента

Данные изменения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в группе 2, исследуемых животных свидетельствует о выраженном повышении степени тревоги и нарастании депрессивного паттерна, значительно превышающих изменения в первой группе исследуемых животных. Данные выводы основаны на избегании светлых рукавов, увеличении пребывания в темных рукавах и полном отказе от вертикальной исследовательской активности в тесте и активации вегетативных реакций по типу уменьшения дефекации и уринации, которые в данном тесте интерпретируются как физиологические неэмоциональные с активацией САМ оси. Общие данные теста демонстрируют активность, при которой животное большую часть времени находится в темном рукаве, соответственно инстинктивным посылам и совершает попытки поиска более благоприятных условий при перемещении. Так, можно говорить о развитии у животных 2-й группы выраженных проявлений депрессивного паттерна и развития тревожности с вегетативной напряженностью

Во всех случаях проводимых исследований было проведено сравнение динамики показателей математическим методом, где за точку отсчета принимался исходный уровень показателей, что позволило установить направленность изменений на основании предварительных статистических расчетов описательных статистик.

Сравнение направленности изменений, производимая на основании сравнения показателей в двух группах представлены на рисунке 11.

По результатам сравнения отмечается увеличение ДПСР в 1 группе на 41,76% со снижением ДПСР во второй группе на 89,33%, однонаправленное изменение ДПТР – в первой группе на 14,93% и во второй на 25,88 % и сопоставимое снижение уровня ДПЦ в 1 группе на 54,33%, во 2 группе на 52,74%, что объясняется разницей в исходных показателях.

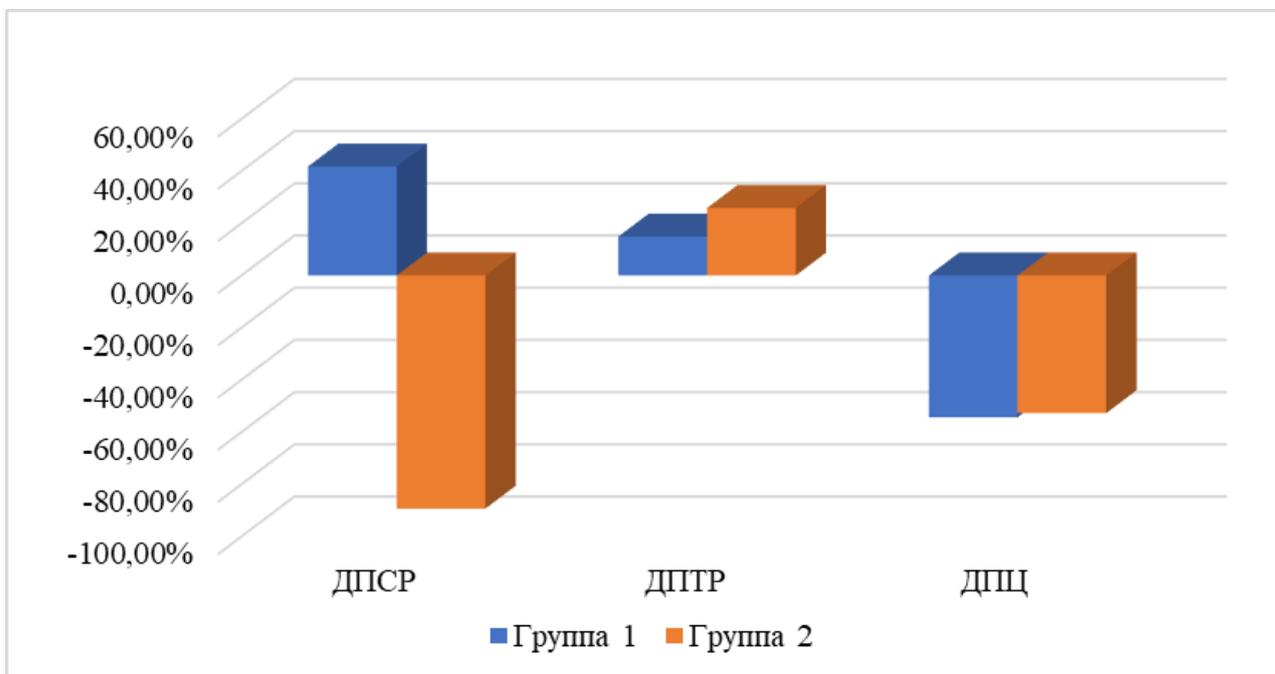


Рисунок 11 – Динамика показателей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в двух исследуемых группах до и после эксперимента

По результатам сравнительного анализа основных показателей для 1 группы в тесте выявляется формирование закономерного адаптационного паттерна, с умеренными признаками тревожного поведения, что является сохранительной реакцией в условиях адаптации. В группе 2 отмечается явный дезадаптационный синдром с проявлениями депрессивного, тревожного, дизрегуляционного вегетативного паттернов.

Тест «Открытое поле»

Сравнение показателей до и после эксперимента в группе 1 и группе 2 проводили с использованием Т – критерия Уилкоксона, для уровня значимости $\alpha=0,05$. Результаты проведения теста «Открытое поле» для группы 1 приведены в таблице 8.

Результаты данных, полученных при исследовании животных 1 группы в тесте «Открытое поле», согласно таблице 8, по завершению эксперимента показали статистически достоверное снижение ВДА ($p=0,007$) на 54,55% (в 0,45 раз), что в данном тесте может свидетельствовать об угасании направленной исследовательской деятельности. При этом достоверных значений не достигает КГП ($p=0,221$) увеличиваясь на 61,5%, частота груминга ($p=0,091$), незначительное уменьшение количества уринаций ($p=0,678$) и дефекаций ($p=0,908$)

Таблица 8 – Результаты проведения теста «Открытое поле» в группе 1

Показатель	Группа 1 до эксперимента, n=10			Группа 1 после эксперимента, n=10			P-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
КГП	13	12	17	21	9	22	0,221
ВДА	11	9	14	5	5	5	0,007*
Грумлинг	3	1	3	3	2	4	0,091
КД	2	0	3	1	0	4	0,906
КУ	2	1	3	2	0	3	0,678
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$							

Результаты проведения теста «Открытое поле» для группы 2 приведены в таблице 9. Как следует из данных таблицы 9 после проведения эксперимента во 2 группе исследуемых животных отмечалось снижение КГП ($p=0,005$) на 61,12% (в 2,57 раза) и снижение ВДА ($p=0,007$) на 70% (в 3,33 раза), подтверждаемые статистически. При этом достоверной значимости не имеет увеличение частоты груминга ($p=0,441$) на 50 %, сохраняющееся КД ($p=0,678$) и увеличение уриаций ($p=0,072$) на 100% по показателям медианы.

Таблица 9 – Результаты проведения теста «Открытое поле» в группе 2

Показатель	Группа 2 до эксперимента, n=10			Группа 2 после эксперимента, n=10			P-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
КГП	18	12	24	7	3	11	0,005*
ВДА	10	9	11	3	1	5	0,007*
Грумлинг	2	2	3	3	1	4	0,441
КД	2	1	2	2	0	5	0,678
КУ	1	1	1	2	1	2	0,272
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$							

Диаграмма размаха на рисунке 12 подтверждает полученные результаты в обеих группах и графически демонстрирует значительное увеличение показателей с разрежением размаха и увеличением дисперсии КГП в 1 группе после эксперимента, уменьшение ВДА в 1 группе со значительным уплотнением размаха и уменьшением дисперсии.

Показатели группы 2 демонстрируют значительное снижение КГП с уплотнением размаха и умеренным расширением дисперсии в направлении увеличения, как и значительное снижение показателей ВДА с разрежением размаха и увеличением дисперсии.

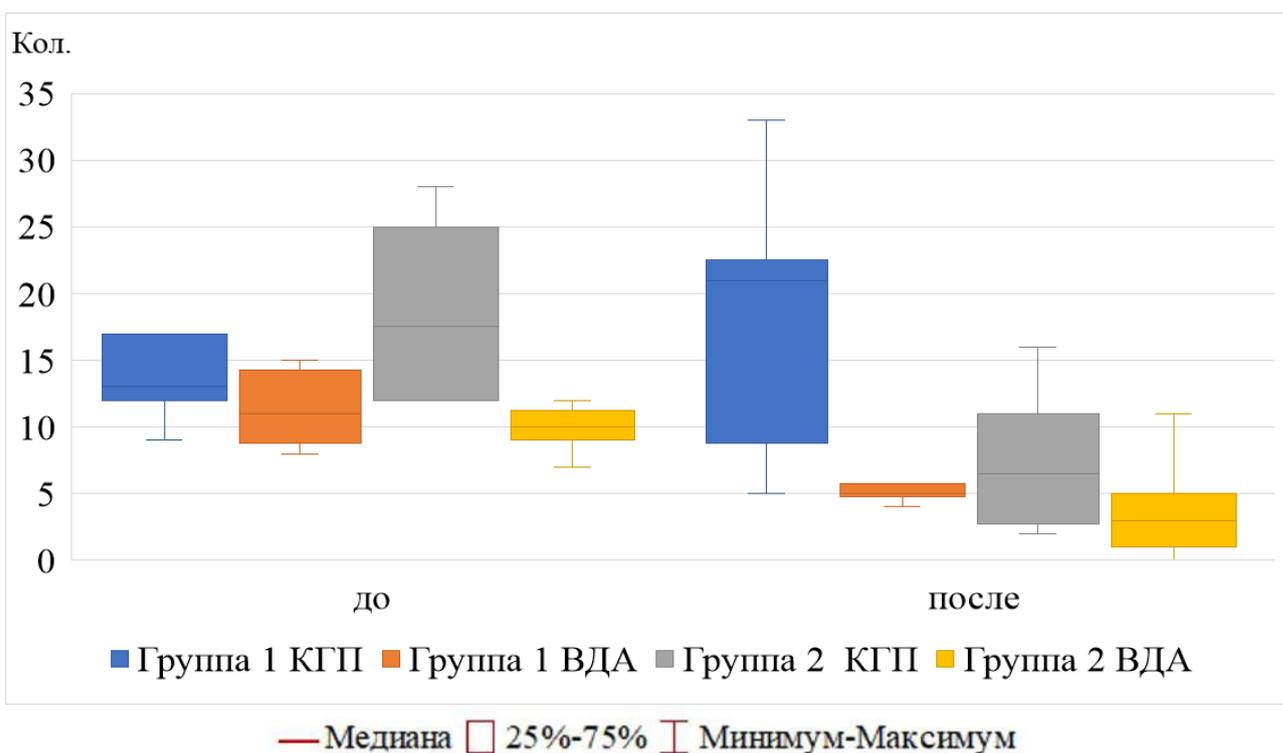


Рисунок 12 – Сравнительная характеристика изменений КПИ, ВДА в тесте «Открытое поле» в двух исследуемых группах до и после эксперимента

Сравнительная характеристика изменений после проведения эксперимента графически представлена на рисунке 13 и демонстрирует разнонаправленные изменения КПИ – повышение в 1 группе на 14,7% и значительное снижение во 2 группе на 55,47%. Отмечается однонаправленное снижение показателя ВДА в обеих группах, на 50,67% в 1 группе и на 64,69% во 2 группе.

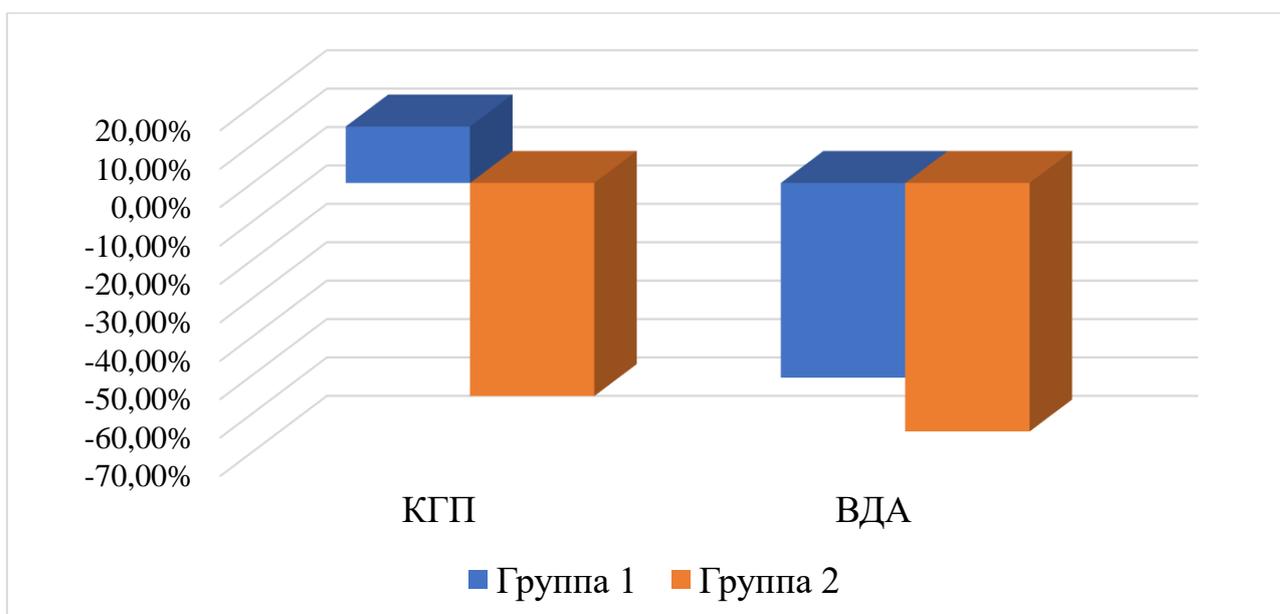


Рисунок 13 – Динамика показателей в тесте «Открытое поле» в двух исследуемых группах до и после эксперимента

Во 2 исследуемой группе животных мы определили паттерн поведения, характеризующийся общим снижением двигательной активности и склонность к «смирению», противоположный поведению животных 1 группы. В группе ХНУС снижение КГП свидетельствовало о проявлении страха и ослаблении усилий в попытке избежать открытого освещенного пространства, что отлично от поведения животных 1 группы при выявленном увеличении КГП, а снижение ВДА свидетельствует о значительном угасании исследовательски-ориентировочной деятельности и возможном нарастании тревоги. Подобные реакции свидетельствуют о прогрессировании дезадапционного тревожного поведения в группе 1 и преобладания депрессивного поведения в группе 2 по результатам теста «Открытое поле».

При анализе поведения крыс в тесте «Открытое поле» необходимо учитывать различие заданных условий сравнительно с тестом «Приподнятый крестообразный лабиринт». В данном тесте животные лишены возможности укрыться в темноте и находятся на освещенной площадке. Исходя из этого сохранительное поведение характерно для крыс в первой группе и может свойственно адаптационному поведению с умеренными признаками тревожности, учитывая увеличение КГП в поисках убежища, изменения квартильных интервалов груминга и незначительной активацией вегетативных проявлений по показателям уринации и дефекации. Однако в группе 2 более четко прослеживается депрессивное поведение, характеризующее снижением как вертикальной, так и горизонтальной двигательной активности и тревожное поведение животных, выявляемое увеличением частоты груминга – прямой характеристики тревоги и активации вегетативной компоненты по данным медиан и квартильных размахов КУ и КД. Полученные данные позволяют говорить об умеренных поведенческих реакциях крыс в группе 1 и депрессивного и тревожного поведения в группе 2, которое также может характеризоваться как развитие апатобулического паттерна, являющегося структурным компонентом депрессивного расстройства.

Тест «Подвешивание за хвост»

Сравнение показателей до и после эксперимента в группе 1 и группе 2 проводили с использованием Т – критерия Уилкоксона, для уровня значимости $\alpha=0,05$. Результаты проведения теста «Подвешивание за хвост» для группы 1 приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Результаты проведения теста «Подвешивание за хвост» для животных группы 1

Показатель	Группа 1 до эксперимента, n=10			Группа 1 после эксперимента, n=10			Р-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
ЛПИ	26	22	33	22	17	33	0,799
СИ	176	148	186	232	177	243	0,022*
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$							

По данным представленным в таблице 10 в группе исследуемых животных отмечается достоверное повышение показателя СИ ($p=0,022$) на 31,8% и статистически не значимое снижение ЛПИ ($p=0,799$) на 15,4%, , что может рассматриваться как нарастание депрессивного паттерна у крыс 1 группы либо, что было отмечено при проведении эксперимента, крысы в период иммобилизации осматривали окружающую обстановку и проявляли исследовательский интерес к выходу из некомфортного для них положения.

Результаты проведения теста «Подвешивание за хвост» для группы 2 приведены в таблице 11.

Таблица 11 – Результаты проведения теста «Подвешивание за хвост» для животных группы 2

Показатель	Группа 2 до эксперимента, n=10			Группа 2 после эксперимента, n=10			P-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
ЛПИ	25	21	28	34	27	47	0,260
СИ	181	166	192	197	161	231	0,169
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$							

В группе 2 данные не показывают статистически достоверных различий, однако отмечается повышение ЛПИ ($p=0,260$) на 36 %, повышение СИ ($p=0,169$) на 8,8%, но, на основании увеличения абсолютных показателей, свидетельствует о признаках нарастающего тревожно-депрессивного паттерна, как представлено в таблице 11.

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 14, подтверждает полученные результаты и графически демонстрирует увеличение размаха всех показателей в двух группах. Так ЛПИ в группе 2 после эксперимента превышает показатели 1 группы, разрежая плотность размаха и дисперсию. Показатель СИ в 1 группе демонстрирует прирост от первоначальных значений и превосходит показатели группы 2, при этом расширяя размах и уменьшая дисперсию. Однако результаты 2 группы показывают более выраженную динамику изменений после эксперимента, повышая показатели, увеличивая дисперсию в сторону увеличения, превосходя исходные показатели. Полученные результаты могут свидетельствовать о поведении «смирения» или «безысходности» у животных 2 группы в большей степени чем у животных группы 1. Необходимо отметить что сама методика проведения теста является достаточно сильным стрессовым фактором и может вызывать реакцию острого стресса у животных не подвергающихся процедуре ХНУС и вызывать физиологические изменения в организме подвергшемся тесту.

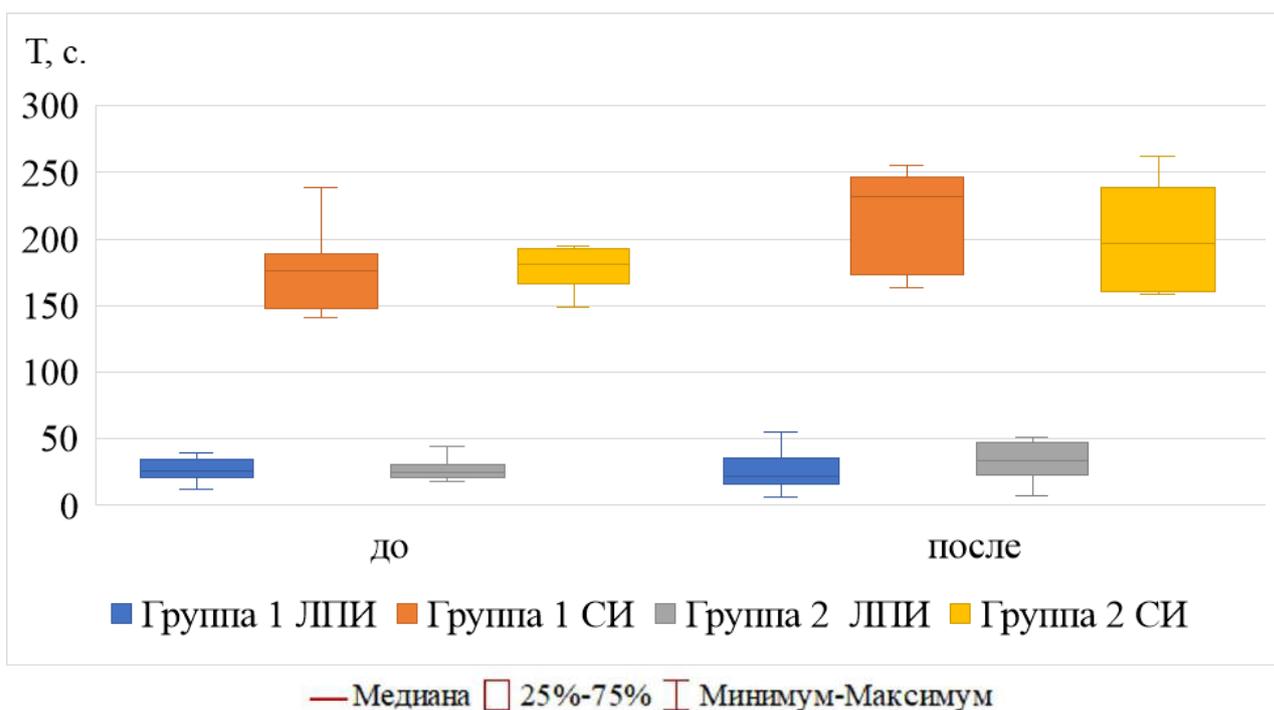


Рисунок 14 – Сравнительная характеристика изменений в тесте «Подвешивание за хвост» ЛПИ и СИ в двух исследуемых группах до и после эксперимента

Сравнение показателей в двух группах приведено на рисунке 15, демонстрирующем увеличение исследуемых показателей в обеих группах. При оценке динамики изменения носят противоположный характер в группах. В группе 1 увеличение ЛПИ на 13,29% сочетается с увеличением СИ на 28,58%, тогда как в группе 2 наблюдается увеличение ЛПИ на 34,31%, а СИ на 9,87%.

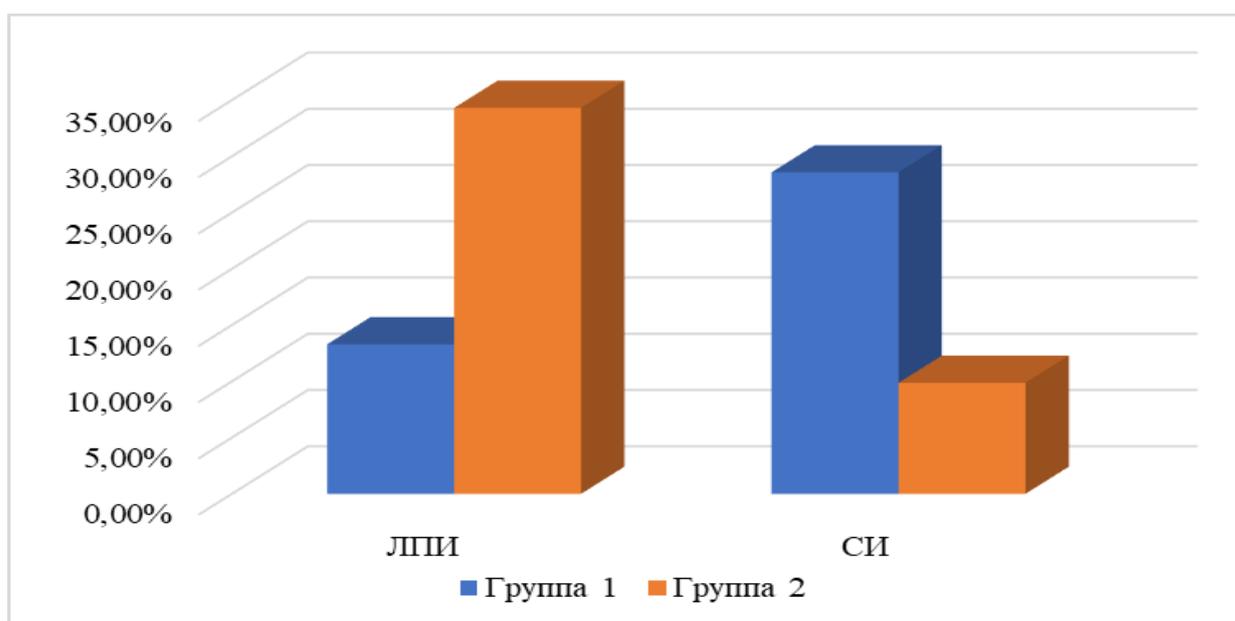


Рисунок 15 – Динамика показателей в тесте «Подвешивание за хвост» в двух исследуемых группах до и после эксперимента

Тест «Подвешивание за хвост» сопоставим по своему воздействию с дополнительным стрессором, несмотря на частоту его использования, как замена тесту «Порсолта». Так в группе 1 мы отмечаем увеличение суммарной иммобилизации, рассматривать которую можно двояко – либо как признак депрессивного поведения, либо как поведение поисково-исследовательское, что не позволяет сделать однозначного вывода. В группе 2, при отсутствии достоверных различий при проведении эксперимента отмечалось отсутствие поисково-исследовательского поведения у крыс, и они совершали однообразные попытки раскручиванием освободиться из тестовой установки. При этом ЛПИ увеличивается, характеризуя поведение смирения, свойственное депрессивному поведению, а показатели СИ меняются незначительно, не достигая уровня статистической достоверности.

Тест «Предпочтение сахарозы»

В тесте предпочтения сахарозы выявлялось предпочтение исследуемых животных к получению вознаграждения в виде сладкой воды, в условиях наличия и обычной воды, что характеризует нормальный уровень гедонии и отсутствия проявления депрессии. Количество потребляемой жидкости в абсолютных единицах – мл и в процентах на одно животное в группе 1 представлено в таблице 12.

Согласно представленной таблице 12 в ходе эксперимента отмечается увеличение количества потребляемой подслащенной воды после первой недели эксперимента и некоторое снижение ее потребления к 14-му и 21-му дням эксперимента.

Таблица 12 – Характеристика изменений потребления жидкости в тесте «Предпочтение сахарозы» в группе 1

	До эксперимента, мл	7 день, мл	14 день, мл	21 день, мл	До эксперимента, %	7 день, %	14 день, %	21 день, %
Вода	33	20	25	32	48,53	34,48	35,71	39,51
Сахароза	35	38	45	49	51,47	65,52	64,29	60,49
Всего	68	58	70	81				

Согласно графическому представлению вышеприведенной таблицы, на рисунке 16 отражено полное потребление жидкости животными группы 1. При этом отмечается большее потребление воды с сахарозой до начала эксперимента на 2,94%, что не является значимой разницей ввиду отсутствия у животных опыта в выборе жидкости. В дальнейшем на 7 день эксперимента преобладание потребления сахарозы составляет 31,03%, на 14 день на 28,57%, на 21 день на 20,99%. Данные результаты не указывают на явное предпочтение крысами исключительно подслащенной воды. Также отмечаемое снижение потребления воды с сахарозой к концу эксперимента может говорить о влиянии на склонность к вознаграждению и получению удовольствия факторов периодического стресса,

которыми является забор крови и испытания в поведенческих тестах, часть которых носит явно выраженный стрессогенный характер, как, например тест «Подвешивание за хвост».

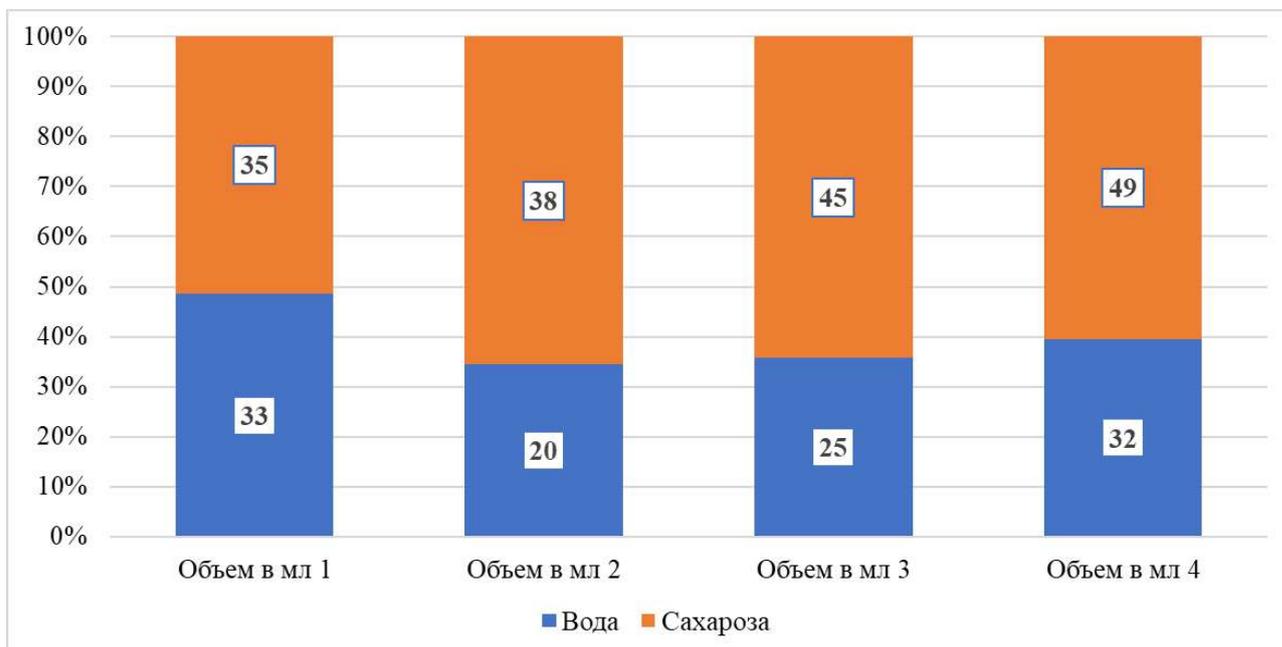


Рисунок 16 – Динамика изменения потребления жидкости в тесте «Предпочтение сахарозы» в группе 1

При анализе поведения крыс в тесте «Предпочтения сахарозы» группы 2, представленных в таблице 13 отмечается картина формирующейся ангедонической направленности, характеризующейся снижением потребления подслащенной воды в абсолютных и процентных соотношениях и явное снижение общего количества потребляемой жидкости. Данные проявления демонстрируют проявления ангедонии, как важного структурного компонента депрессивного поведения.

Таблица 13 – Характеристика изменений потребления жидкости в тесте «Предпочтение сахарозы» в группе 2

	До эксперимента, мл	7 день, мл	14 день, мл	21 день, мл	До эксперимента, %	7 день, %	14 день, %	21 день, %
Вода	34	32	40	43	52,31	74,42	75,47	78,18
Сахароза	31	11	13	12	47,69	25,58	24,53	21,82
Всего	65	43	53	55	100	100	100	100

Наглядное соотношение потребления жидкости животными в группе 2 представлено на рисунке 17 и дополняет данные таблицы 13. Показатели до эксперимента не имеют значимого различия в количестве потребленной воды и раствора сахарозы, которого больше на 4,62%, что так же, как и в группе 1 может

быть связано с отсутствием у животных опыта выбора потребляемой жидкости. Однако, при дальнейшем формировании модели ХНУС в группе 2 отмечается снижение потребления раствора сахарозы к 7-му дню на 65%, к 14-му дню на 58%, к 21-му дню на 60%, что явно свидетельствует о снижении мотивации животных к получению вознаграждения и формированию ангедонического паттерна, подтверждающего развитие депрессивного состояния. Одновременно отмечается снижение общего потребления жидкости, которое к 7 дню снижается на 34%, к 14 дню, на 18%, к 21 дню снижение от изначального объема составляет 15%.

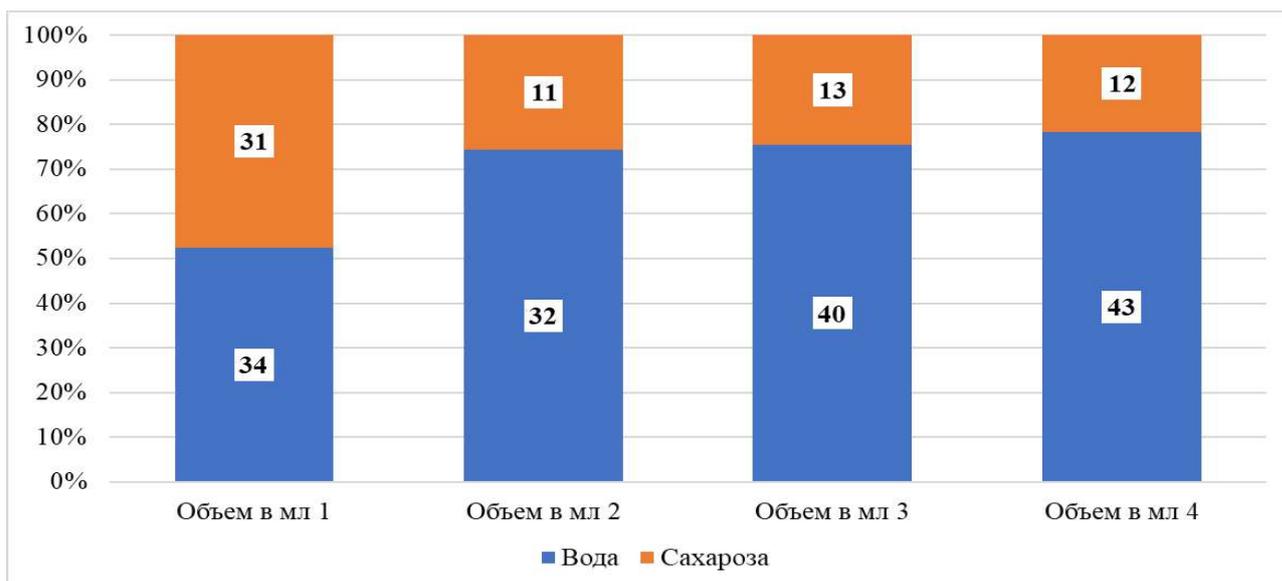


Рисунок 17 – Динамика изменения потребления жидкости в тесте «Предпочтение сахарозы» при формировании модели ХНУС в группе 2

При подсчете среднего объема суммарно потребляемой жидкости на одно животное отмечается, что в группе 2 этот объем ниже, чем в группе 1. И если до эксперимента эта разница составляет 3 мл, что не является существенной разницей, то к 7-му дню разница составляет 15 мл, к 14-му дню – 9 мл, а к 21-му дню – 12 мл. Таким образом при сравнении двух групп в тесте «Предпочтение сахарозы» в группе 1 не отмечается формирования ангедонического поведения, учитывая сохраняющееся количество потребляемой жидкости и преобладающее потребление воды с сахарозой, в то время как в группе 2 признаки ангедонии подтверждаются уменьшением общего количества потребляемой жидкости на одно животное и явное уменьшение потребления раствора сахарозы.

Тест «Предпочтение сахарозы» считается наиболее информативным для характеристики ангедонического поведения у животных, но не основополагающим. Результаты в двух группах демонстрируют значительное различие в потреблении воды с сахарозой.

Так в группе 1 увеличение потребления общего количества жидкости и воды с сахарозой за период эксперимента подтверждает отсутствие ангедонии, в то время как в группе 2 отмечается снижение потребления общего количества

жидкости и более выраженное снижение потребления подслащенной воды, демонстрирующее проявление ангедонии. Животные второй группы не делают выбора поилок в поиске поилки с подслащенной водой.

Таким образом на основании проведенных поведенческих тестов в группе 1 отмечаются признаки запуска адаптационного механизма к таким стрессорам как проводимые поведенческие тесты однократно в неделю и забор крови, что можно расценивать как периодический острый стресс, в промежутках между которыми животные получают время для психологической стабилизации. Однако и эти воздействия выполняют роль обычных адаптационных стрессоров, что обуславливает появление в некоторых тестах признаков расстройств поведения, что, возможно, обусловлено присутствием в расчетах особо восприимчивых особей, несмотря на отбор участников эксперимента со схожим темпераментом. При этом в группе 2, подвергающейся ХНУС и проходящих процедуры забора крови и исследования в поведенческих тестах выявляется широкий спектр поведенческих нарушений, укладывающихся в критерии поведенческих расстройств, индуцированных стрессом, преимущественно депрессивного типа, но также тревожного и смешанного.

Полученные результаты дают все основания заключить что в группе 2 произведено формирование стресс-индуцированного расстройства в следствие воздействия хронического стресса по типу расстройства адаптации с различной направленности – депрессивными, тревожными, смешанными и другими поведенческими. Оценка поведенческих расстройств, характерных исключительно для человека в данном эксперименте не была доступна.

3.1.2 Оценка изменений показателей окислительного метаболизма в эритроцитах и плазме крови крыс

В двух исследуемых группах дважды было проведено определение показателей окислительного метаболизма – РКПБ в эритроцитах и плазме, МДА в эритроцитах и плазме, МГ в эритроцитах и МСГ. Сравнение показателей до и после эксперимента в группе 1 и группе 2 проводили с использованием Т – критерия Уилкоксона, для уровня значимости $\alpha=0,05$. В таблице 14 представлены результаты определения показателей РКПБ, МДА, МГ, МСГ в крови животных 1 группы.

Таблица 14 – Показатели РКПБ, МГ, МДА, МСГ животных 1 группы

Показатель	Группа 1 до эксперимента, n=10			Группа 1 после эксперимента, n=10			Р-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
РКПБ в эритроцитах	1,983	1,792	2,20	2,244	1,619	2,630	0,6460
РКПБ в плазме	0,628	0,606	0,75	1,294	1,117	1,411	0,0051*
МГ в эритроцитах	0,773	0,711	0,90	0,760	0,676	0,831	0,2845
МДА в эритроцитах	6,795	5,737	8,75	6,077	4,301	9,231	0,6780
МДА в плазме	2,251	1,694	2,83	1,469	1,350	1,509	0,0069*
МСГ	7,799	6,023	8,61	7,157	6,544	8,186	0,5751

Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$

Согласно таблице 14 в группе 1 после эксперимента отмечается статистически значимое увеличение РКПБ в плазме ($p=0,0051$) на 106,05% (в 2,06 раз), снижение МДА в плазме ($p=0,0069$) на 34,74 % (в 1,53 раза). При этом увеличение РКПБ в эритроцитах ($p=0,6460$) на 13,16%, МДА в эритроцитах ($p=0,6780$) на 10,57%, снижение МГ в эритроцитах ($p=0,2845$) на 1,68%, и МСГ ($p=0,5751$) на 8,23% не имеет статистической значимости.

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 18 в подтверждение данных, графически демонстрирует изменения после проведения эксперимента.

Согласно представленным на рисунке 18 результатам, уровень РКПБ эритроцитов увеличивается с расширением плотности размаха и смещением дисперсии, как и медианы в большую сторону, РКПБ плазмы увеличивается незначительно уменьшая плотность размаха и несколько увеличивая нижний размер дисперсии.

Динамика МГ в графическом представлении соответствует ранее представленным числовым расчетам и демонстрирует лишь незначительное расширение дисперсии в сторону уменьшения.

МДА плазмы значительно снижается с уплотнением размаха и сохранением размеров дисперсии. При этом диаграмма размаха показывает относительное сохранение уровня МГ с расширением дисперсии в сторону снижения и уплотнение показателей размаха МСГ со значительным расширением дисперсии в сторону уменьшения, что подтверждает результаты расчета данных в таблице 14.

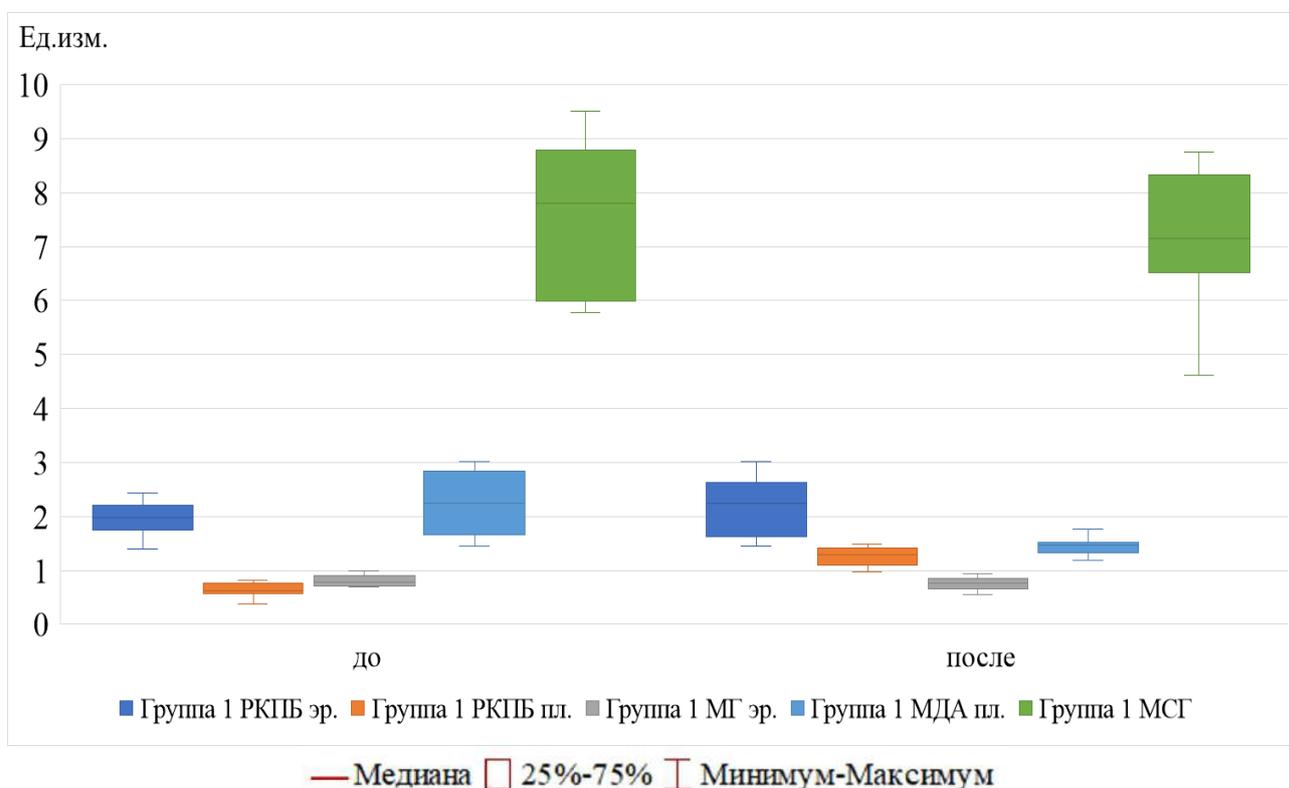


Рисунок 18 – Сравнительная характеристика изменений РКПБ, МГ, МСГ эритроцитов и плазмы, МДА плазмы в 1 группе до и после эксперимента

В таблице 15 представлены результаты определения показателей РКПБ, МГ, МДА, МСГ в крови животных 2 группы.

Как представлено в таблице 15, в группе 2 отмечается статистически значимое повышение РКПБ в эритроцитах ($p=0,059$) на 69 % (в 1,69 раз), снижение МДА в плазме ($p=0,009$) на 10,05 % (в 1,11 раз), увеличение МГ в эритроцитах ($p=0,009$) на 23,09% (в 1,23 раз). При этом показатели, не имеющие статистической достоверности, показали снижение РКПБ в плазме на 23,09% ($p=0,878$), увеличение МДА в эритроцитах на 17,31% ($p=0,169$), повышение МСГ на 8,63% ($p=0,721$).

Таблица 15 – Показатели РКПБ, МГ, МДА, МСГ животных 2 группы

Показатель	Группа 2 до эксперимента, n=10			Группа 2 после эксперимента, n=10			P-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
РКПБ в эритроцитах	2,147	1,89	2,621	3,632	2,019	4,875	0,059*
РКПБ в плазме	1,052	0,857	1,134	0,996	0,848	1,212	0,878
МГ в эритроцитах	0,615	0,573	0,639	0,757	0,728	0,828	0,009*
МДА в эритроцитах	10,00	8,814	11,057	11,731	8,974	19,551	0,169
МДА в плазме	1,721	1,694	1,774	1,548	1,350	1,668	0,013*
МСГ	7,370	6,909	7,876	8,006	6,633	8,512	0,721
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$							

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 19 графически демонстрирует проведенные расчеты и подтверждает полученные данные. РКПБ в эритроцитах увеличивается с разрежением размаха и увеличением дисперсии, РКПБ плазмы сохраняет прежний уровень с уменьшением верхней границы дисперсии, МГ повышается с расширением нижней величины дисперсии, МДА плазмы демонстрирует снижение показателей с расширением размаха и расширением верхней величины дисперсии, при уменьшении нижней. Отмечается повышение показателей МСГ с увеличением размаха, снижением его плотности, увеличением дисперсии как в сторону увеличения, так и уменьшения. При этом отмечается смещение медианы в сторону увеличения ее значения и снижение плотности сгруппированности данных.

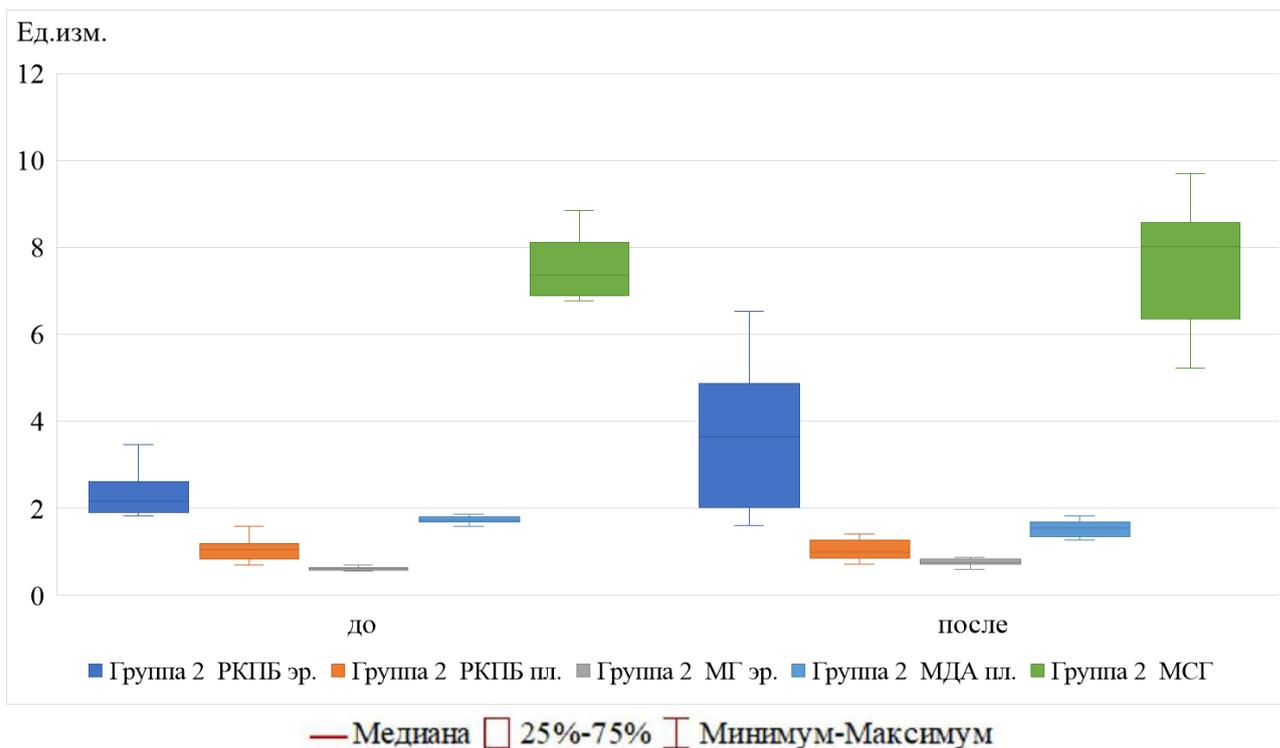


Рисунок 19 – Сравнительная характеристика изменений РКПБ, МГ, МДА, МСГ эритроцитов и плазмы во 2 группе до и после эксперимента

Показатели МДА эритроцитов до и после эксперимента представлены диаграммой размаха на рисунке 20, ввиду отличия абсолютных показателей от выше представленных.

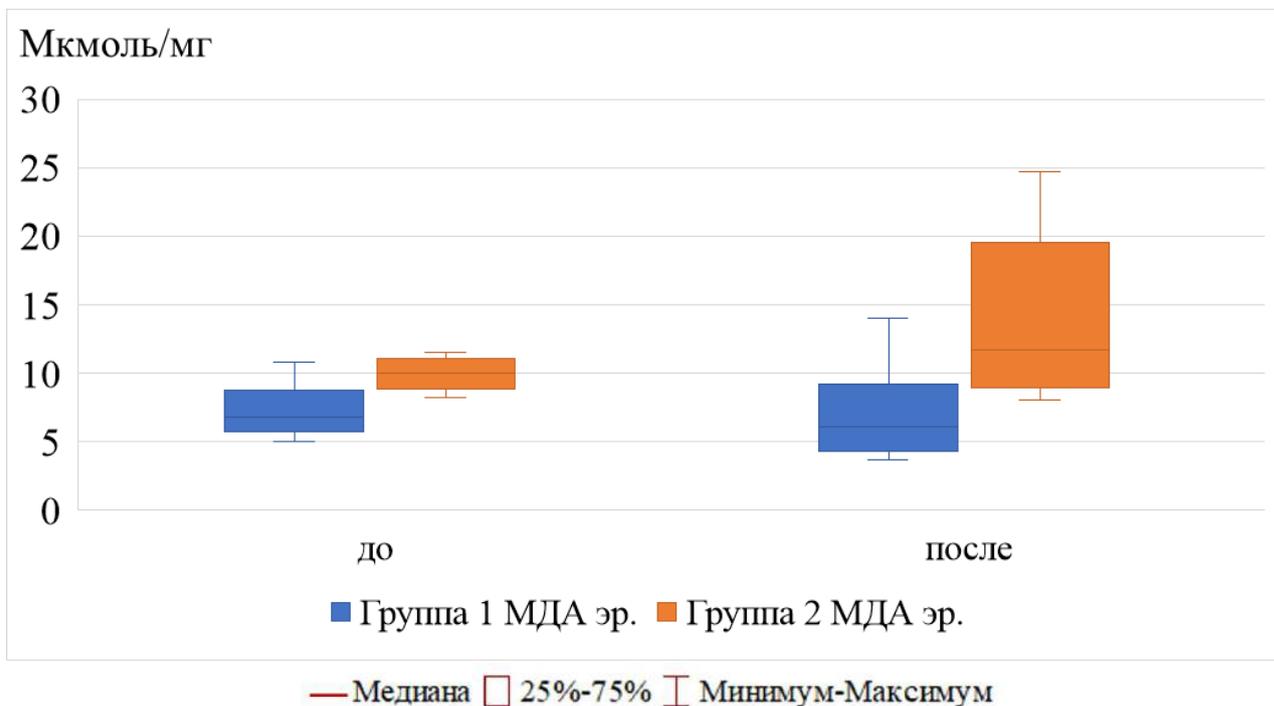


Рисунок 20 – Сравнительная характеристика изменений МДА эритроцитов в двух исследуемых группах до и после эксперимента.

МДА в эритроцитах 1 группы, не имеет статистически достоверных отличий ($p=0,169$) и после эксперимента графически демонстрирует уменьшение плотности размаха, увеличивая верхнюю границу дисперсии, сравнительно с данными до эксперимента, сохраняя величину дисперсии в направлении более низких показателей. При этом показатели МДА в эритроцитах группы 2 демонстрируют повышение медианы, расширение размаха со значительным снижением его плотности и значительным увеличением размера дисперсии в сторону увеличения, при величине нижней дисперсии, сопоставимой с таковой до формирования модели

Дальнейший проведенный расчет динамики средних величин исследуемых показателей на рисунке 21 демонстрирует разнонаправленное изменение МГ в эритроцитах со снижением в 1 группе на 5,12% и увеличением в группе 2 на 27,73%, МДА в эритроцитах со снижением в 1 группе на 5,12% и увеличением во 2 группе на 40,47%. МСГ, имея разнонаправленное движение показателей, демонстрирует их незначительно – повышаясь в группе 1 на 8,09% и снижаясь в группе 2 на 0,85%.

При этом однонаправленные изменения увеличения мы видим при анализе РКПБ эритроцитов – в группе 1 на 24,04%, в группе 2 на 53,92%, РКПБ плазмы – в группе 1 на 105,49%, в группе 2 на 12,62%. В свою очередь показатели МДА в плазме уменьшаются в группе 1 на 30,26%, в группе 2 на 11,58%.

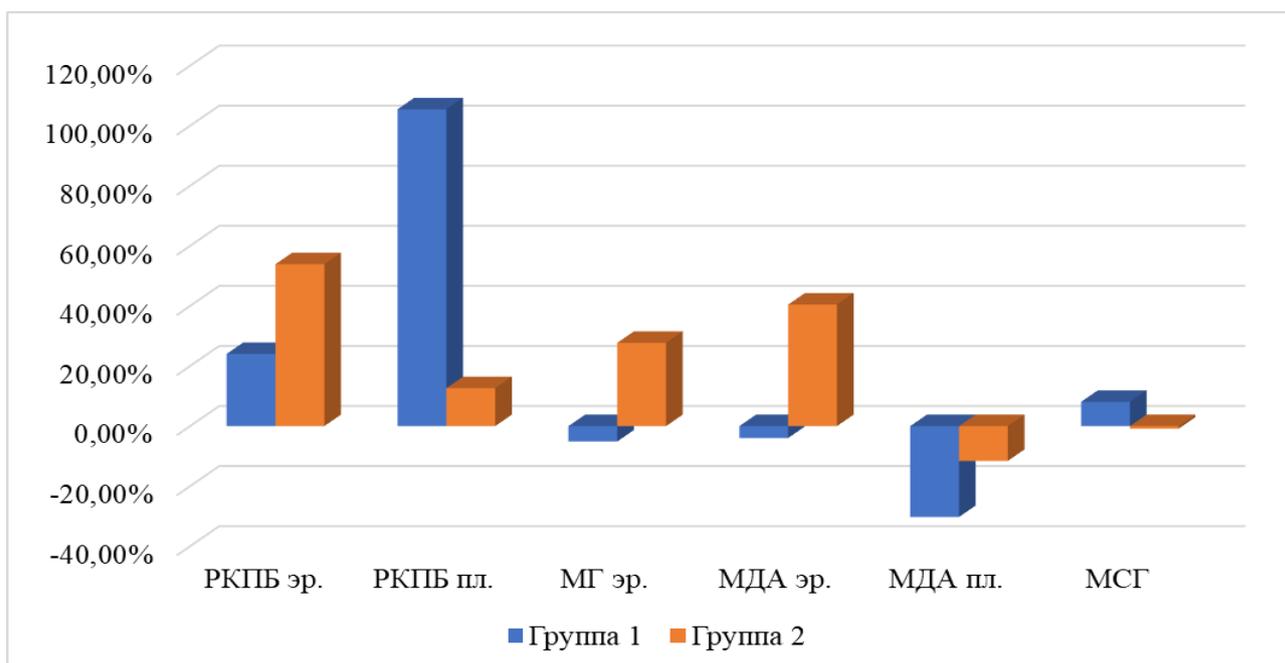


Рисунок 21 – Динамика показателей РКПБ, МГ, МДА, МСГ эритроцитов и плазмы в двух исследуемых группах до и после эксперимента

Таким образом, исследуемые показатели в двух группах имеют значительные различия, что характеризует течение процессов карбонилирования белков, перекисного окисления липидов и окислительных процессов обмена МГ. Отмеченные статистически достоверные изменения в группе 1 после

эксперимента - увеличение РКПБ в плазме ($p=0,0051$) на 106,05% (в 2,06 раз), снижение МДА в плазме ($p=0,0069$) на 34,74 % (в 1,53 раза) предполагают системную реакцию в организме при сохранении других показателей, приближенных к исходным и не имеющих статистической значимости.

При формировании модели ХНУС в группе 2 отмечается статистически значимое повышение РКПБ в эритроцитах ($p=0,059$) на 69 % (в 1,69 раз), снижение МДА в плазме ($p=0,009$) на 10,05 % (в 1,11 раз), увеличение МГ в эритроцитах ($p=0,009$) на 23,09% (в 1,23 раз) позволяют предположить активацию окислительных процессов как системного характера, отраженные в плазменном домене, и реакцию местную, затрагивающую эритроцитарный домен. При этом показатели, не имеющие статистической достоверности, в процентном соотношении показывают тенденцию к изменениям со снижением РКПБ в плазме на 23,09% ($p=0,878$), увеличение МДА в эритроцитах на 17,31% ($p=0,169$).

Отмечается что в двух группах эксперимента наименьшую вовлеченность в процесс по завершению формирования модели ХНУС имеет МСГ, демонстрирующий снижение МСГ ($p=0,5751$) на 8,23% в группе 1 и повышение на 8,63% ($p=0,721$) в группе 2, который при сравнении динамики средних показателей демонстрирует обратную направленность.

Полученные данные свидетельствуют об изменении процессов окислительного метаболизма в двух группах, однако процесс в группе 2 имеет более активное течение, активируя и местные и системные процессы окисления. Так, регистрируемое в группе 1 повышение РКПБ, может быть обусловлено карбонилированием помимо других оксидантов и МДА, как одного из аддуктов карбонилирования, снижение показателя которого мы отмечаем. При анализе данная картина может являться подтверждением системного оксидантного процесса за счет образования нерастворимых РКПБ, характеризующимся необратимостью процесса.

В группе 2 увеличение РКПБ может быть объяснено значительным количеством аддуктов процесса карбонилирования в эритроцитах, сопровождающееся повышением МГ, который является самостоятельным высокореакционным окислителем, что способствует развитию гемической гипоксии. Снижение МДА в плазме имея статистическую значимость демонстрирует малый уровень различий и свидетельствует о включении молекул МДА в качестве аддукта в структуру других соединений, в том числе и ДНК, вызывая в них структурно-функциональные нарушения.

3.1.3 Оценка изменений показателей пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови крыс

Сравнение показателей пуриновых производных до и после эксперимента в группе 1 и группе 2 проведено с использованием T – критерия Уилкоксона, для уровня значимости $\alpha=0,05$. В таблице 16 представлены результаты определения показателей пуринов в эритроцитах и плазме крови животных группы 1.

Таблица 16 – Показатели пуринов в эритроцитах и плазме крови животных группы 1

Показатель	Группа 1 до эксперимента, n=10			Группа 1 после эксперимента, n=10			Р-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
Гуанин в эритроцитах	268,5	222,0	301,0	321,0	268,0	339,0	0,0593
Гипоксантин в эритроцитах	299,5	243,0	327,0	359,5	287,0	373,0	0,0284*
Аденин в эритроцитах	325,0	253,0	357,0	382,0	302,0	403,0	0,0469*
Ксантин в эритроцитах	141,5	124,0	170,0	216,5	205,0	1031	0,0125*
Мочевая кислота в эритроцитах	42,50	36,00	55,000	74,00	61,00	84,00	0,0093*
Гуанин в плазме	120,0	108,0	127,0	220,5	214,0	225,0	0,0166*
Гипоксантин в плазме	105,0	101,0	111,0	194,0	187,0	196,0	0,0593
Аденин в плазме	105,5	92,00	108,0	162,0	156,0	167,0	0,0665
Ксантин в плазме	109,0	97,00	123,0	172,5	162,0	180,0	0,0745
Мочевая кислота в плазме	71,00	57,00	86,00	162,0	149,0	173,0	0,0745
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$							

Согласно таблице 16 в группе 1 отмечается увеличение уровня всех показателей пуриновых оснований и их производных, однако статистически значимое достоверное повышение показателей гипоксантина в эритроцитах ($p=0,0284$) на 20,03% (в 1,2 раз), аденина в эритроцитах ($p=0,0469$) на 17,53% (в 1,17 раз), ксантина в эритроцитах ($p=0,0125$) на 53% (в 1,53 раза), мочевой кислоты в эритроцитах ($p=0,0093$) на 74% (в 1,74 раза) и гуанина в плазме ($p=0,0166$) на 83,75% (в 1,83 раза). При этом изменения, статистическая достоверность которых не подтверждена отмечается в случаях увеличения показателей гуанина в эритроцитах ($p=0,0593$) на 19,55%, гипоксантина в плазме ($p=0,0593$) на 84,76%, аденина в плазме ($p=0,0665$) на 53,55%, ксантина в плазме ($p=0,0745$) на 58,26%, МК ($p=0,0745$) на 128,16%

Расчет изменений показателей животных группы 1 графически представлен на рисунках 22 и 23.

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 22 демонстрирует увеличение показателей гуанина с уменьшением плотности размаха и увеличением размера нижней дисперсии, размах гипоксантина имеет тенденцию к уплотнению и смещению границ дисперсии – нижней в сторону увеличения, верхней в сторону незначительного уменьшения. Показатели аденина демонстрируют так же уплотнение размаха с повышением уровней показателей и повышение границ дисперсии с уменьшением величин верхней и нижней дисперсии. Наиболее выраженные изменения отмечаются в показателях ксантина, для которых после формирования модели ХНУС значительно возрастает верхняя граница размаха, общий уровень повышается и возрастает величина нижней дисперсии, при этом увеличение медианы не является

критичным. Уровень мочевой кислоты возрастает без значительных изменений структуры распределения.

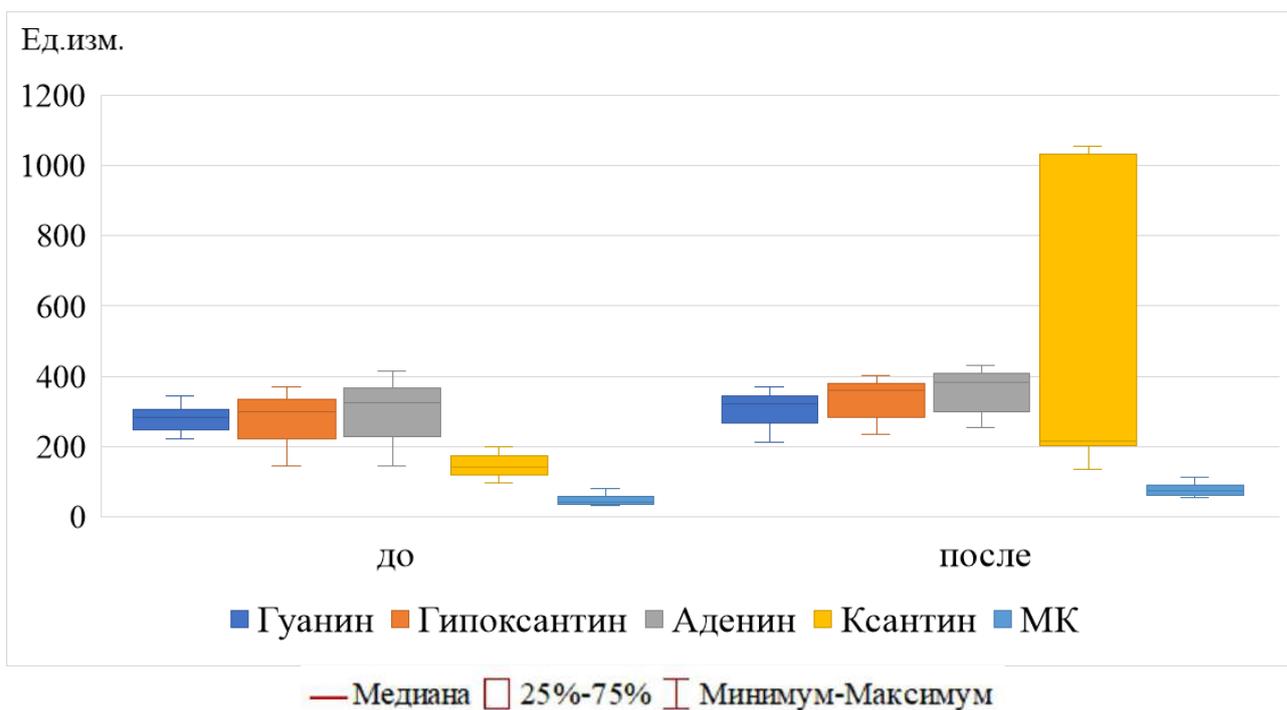


Рисунок 22 – Сравнительная характеристика изменений пуриновых оснований в эритроцитах в 1 группе до и после эксперимента

На рисунке 23 представлена диаграмма размаха динамики пуриновых оснований в плазме.

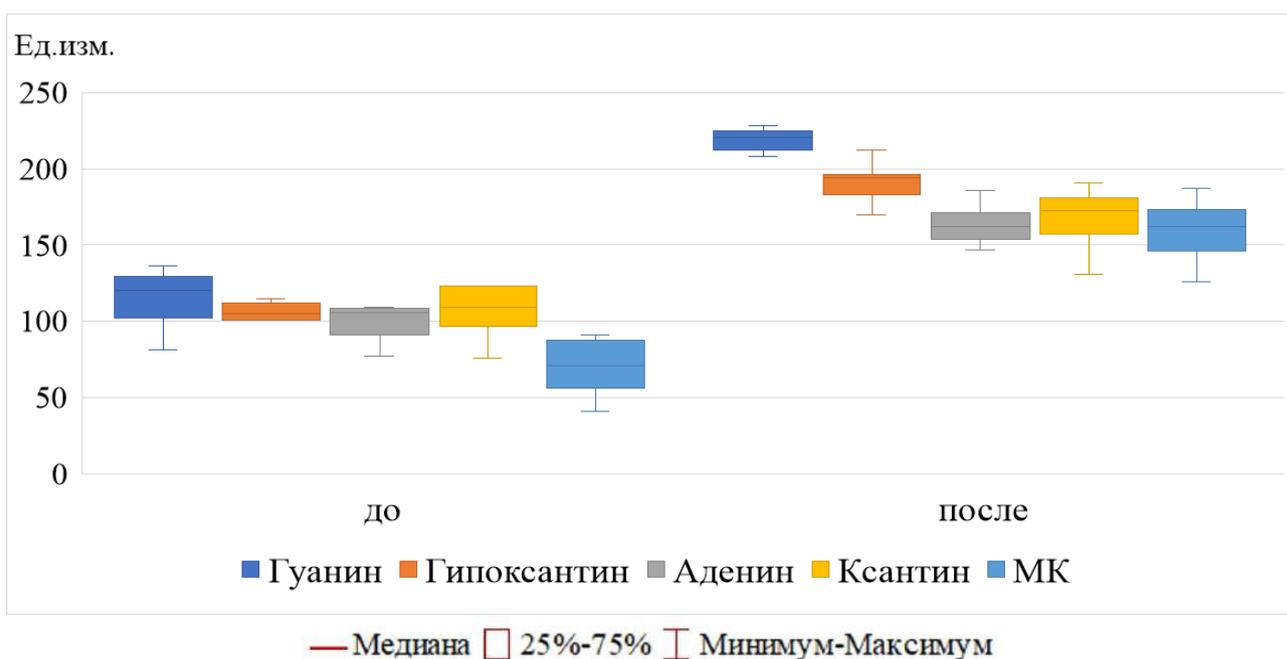


Рисунок 23 – Сравнительная характеристика изменений пуриновых оснований в плазме в 1 группе до и после эксперимента

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 23 показывает максимально выраженное увеличение гуанина в плазме с повышением плотности распределения. Согласно таблице 15 р-уровень других показателей плазмы приближается к уровню статистической значимости, но не достигает его. При этом диаграммы размаха подтверждают расчетные данные, демонстрируя значительное увеличение Гк, А, К, МК с расширением дисперсии в обоих направлениях, но без повышения плотности данных размаха, что возможно препятствует достижению требуемого р-уровня.

В таблице 17 представлены результаты определения показателей пуринов в эритроцитах и плазме крови животных 2 группы, характеризующиеся статистически значимым уровнем во всех исследованиях пуринов в эритроцитах и плазме.

Согласно таблице 17, в большинстве случаев, отмечается снижение уровня показателей после формирования модели ХНУС, не являющиеся статистически значимыми в эритроцитах и плазме, за исключением мочевой кислоты в эритроцитах и плазме, изменения содержания которой имеет статистически достоверную значимость ($p=0,013$ и $p=0,028$ соответственно).

Таблица 17 – Показатели пуринов в эритроцитах и плазме крови животных группы 2

Показатель	Группа 2 до эксперимента, n=10			Группа 2 после эксперимента, n=10			Р- уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
Гуанин в эритроцитах	256,00	209,50	312,50	226,8	195,60	281,00	0,386
Гипоксантин в эритроцитах	266,00	238,50	346,50	252,0	213,20	296,20	0,203
Аденин в эритроцитах	286,00	259,00	369,50	242,4	225,20	299,00	0,139
Ксантин в эритроцитах	132,00	116,50	162,50	136,00	112,80	159,00	0,959
Мочевая кислота в эритроцитах	39,00	27,50	42,00	55,20	45,40	80,20	0,013*
Гуанин в плазме	165,00	139,50	178,50	148,40	139,00	164,20	0,575
Гипоксантин в плазме	143,00	122,50	162,00	135,20	123,00	156,80	0,799
Аденин в плазме	138,00	121,50	160,00	113,60	101,40	147,00	0,241
Ксантин в плазме	147,00	128,00	165,00	124,00	112,60	161,60	0,721
Мочевая кислота в плазме	87,00	71,00	102,00	102,80	91,60	147,40	0,028*
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$							

Повышение мочевой кислоты в эритроцитах при сравнении по медиане составило 41,54% ($p=0,013$), в плазме 18,16% ($p=0,028$). В свою очередь статистически не значимые изменения в эритроцитах характеризовались снижением гуанина на 11,41% ($p=0,386$), гипоксантина на 5,26% ($p=0,203$), аденина на 15,24% ($p=0,139$) и увеличением уровня ксантина на 3,03% ($p=0,959$), что в подавляющем большинстве случаев сопоставимо с исходными данными на

основании распределения показателей внутри группы. Схожую картину динамики изменений мы наблюдаем в плазме крови, где отмечается снижение гуанина на 10,06% ($p=0,575$), гипоксантина на 5,45% ($p=0,799$), аденина на 17,68% ($p=0,241$), ксантина на 15,65% ($p=0,721$), что графически отражено на рисунках 24 и 25.

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 24 демонстрирует снижение таких исследуемых показателей пуринов в эритроцитах как гуанин с уплотнением размаха и увеличением верхней границы дисперсии, гипоксантина с уплотнением размаха, выраженным уменьшением нижней границы дисперсии до Q25 и некоторым увеличением размера верхней дисперсии, аденина с выраженным уменьшением и уплотнением размаха, смещением медианы и увеличением размеров нижней дисперсии в сторону более низких показателей и увеличением размеров верхней дисперсии.

Отмечается изменение показателей ксантина в сторону увеличения со смещением в сторону увеличения медианы и расширения верхней границы дисперсии, сопровождающееся крайне малым размером нижней дисперсии.

Графическое представление показателей мочевой кислоты характеризуется смещением, расширением и снижением плотности размаха в сторону возрастания, с увеличением верхней дисперсии и ее границы.

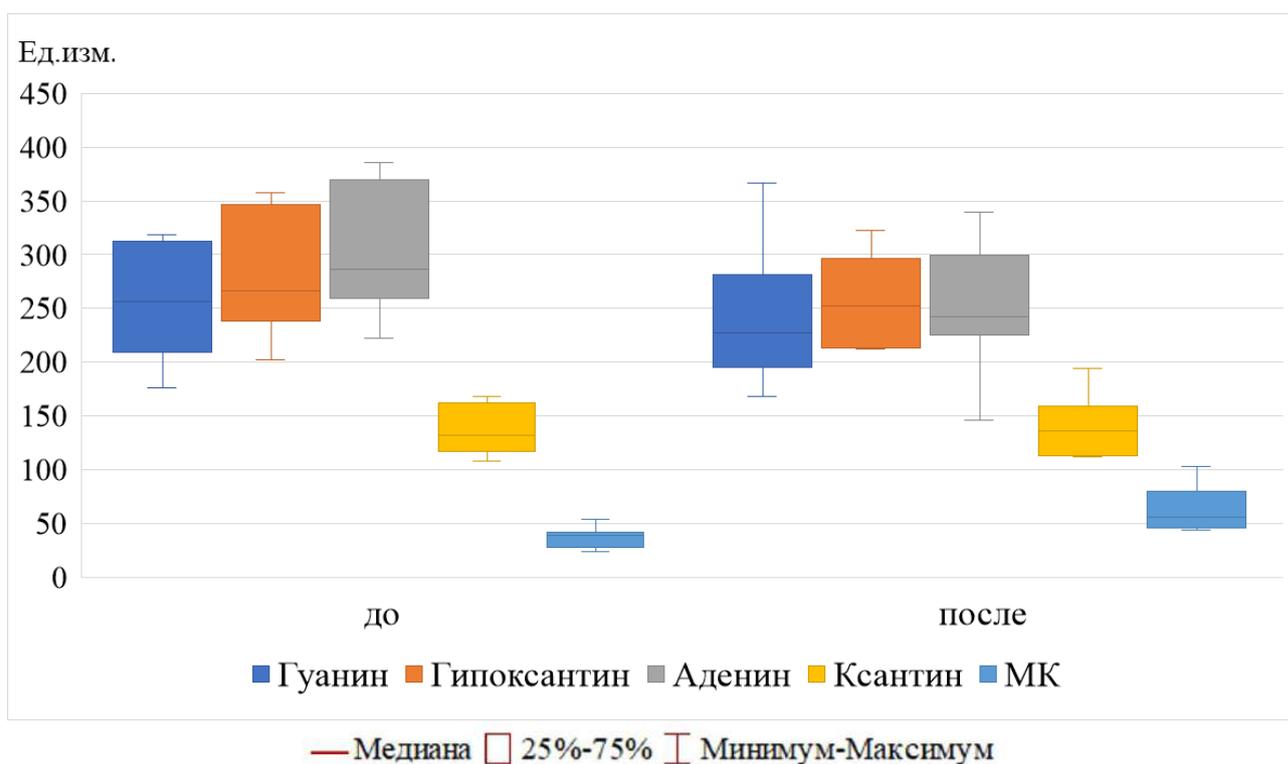


Рисунок 24 – Сравнительная характеристика изменений пуриновых оснований в эритроцитах во 2 группе до и после эксперимента

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 25, после создания модели ХНУС демонстрирует снижение всех показателей в плазме, отраженное как смещение размаха в меньшую сторону, за исключением мочевой кислоты с

явной тенденцией медиан к понижению. При этом гуанин демонстрирует максимальное увеличение плотности размаха и уменьшение размеров дисперсии, гипоксантин характеризуется меньшим увеличением плотности размаха с уменьшением верхней дисперсии, аденин увеличивает размах со снижением его плотности и увеличением размера верхней дисперсии при уменьшении нижней, ксантин увеличивает размер размаха, с сопутствующим снижением плотности при сохранении верхней границы на уровне исходных значений, однако демонстрирует значительное увеличение размера верхней дисперсии с уменьшением нижней.

Представленная на рисунке динамика увеличения уровня мочевой кислоты при умеренном смещении медианы отражает значительное увеличение размера размаха в сторону увеличения с исчезновением верхней дисперсии и незначительным уменьшением размера нижней дисперсии.

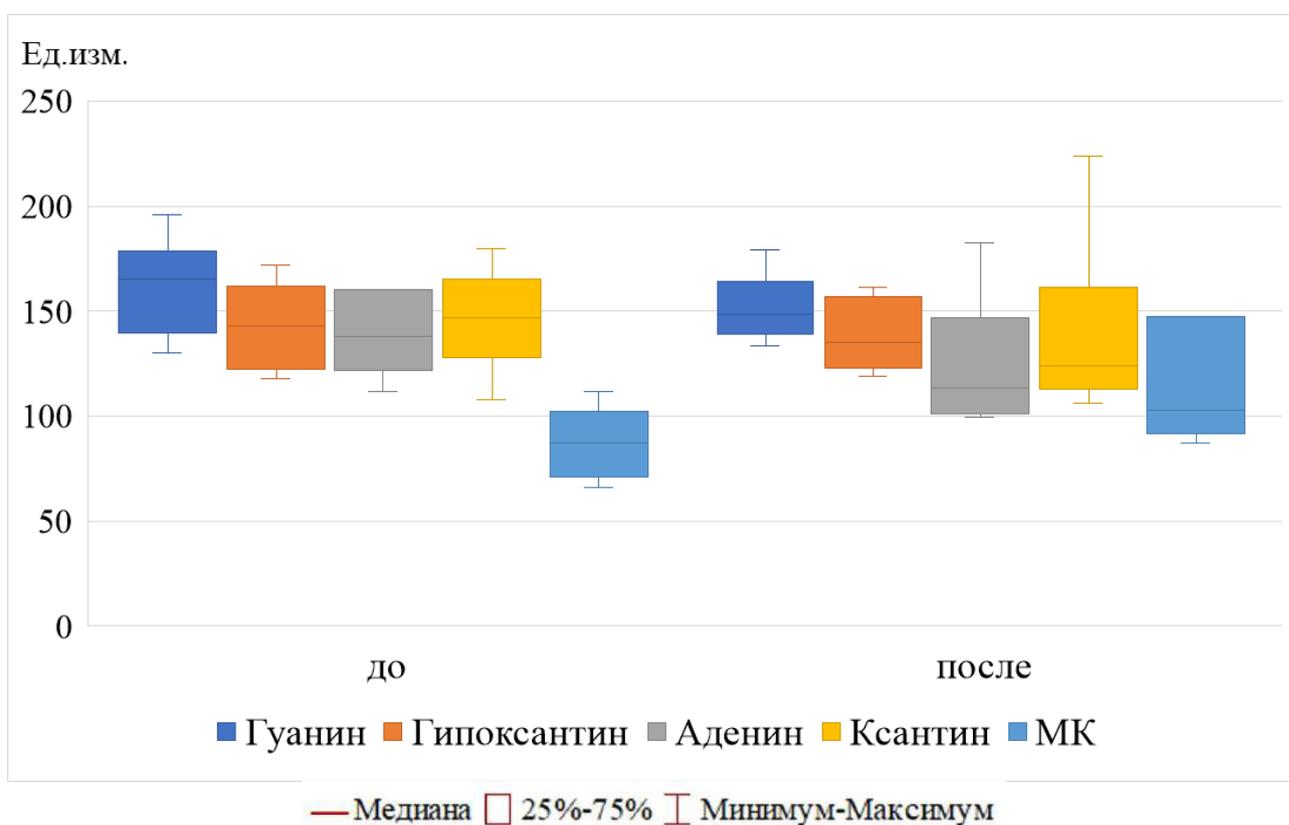


Рисунок 25 – Сравнительная характеристика изменений пуриновых оснований в плазме во 2 группе до и после эксперимента

Расчет динамики изменений средних показателей в двух группах при сравнении пуринов в эритроцитах представлен на рисунке 26.

Показано, что в двух группах изменения пуриновых оснований и их производных в эритроцитах носят разнонаправленный характер в оценке динамики гуанина, гипоксантина и аденина, которые увеличиваются в группе 1 и снижаются в группе 2. Так в группе 1 увеличение гуанина составило 19,12%, гипоксантина 31,92%, аденина 33,75%, снижение этих показателей в группе 2 следующее – гуанина на 4,57%, гипоксантина на 10,67%, аденина на 13,48%.

Увеличение средних показателей ксантина имеет значительную разницу и в группе 1 составляет 262%, при увеличении в группе 2 лишь на 4,82%. Увеличение средних показателей мочевого кислоты в двух группах сопоставимо и в группе 1 составляет 78,38%, в группе 2 – 82,79%.

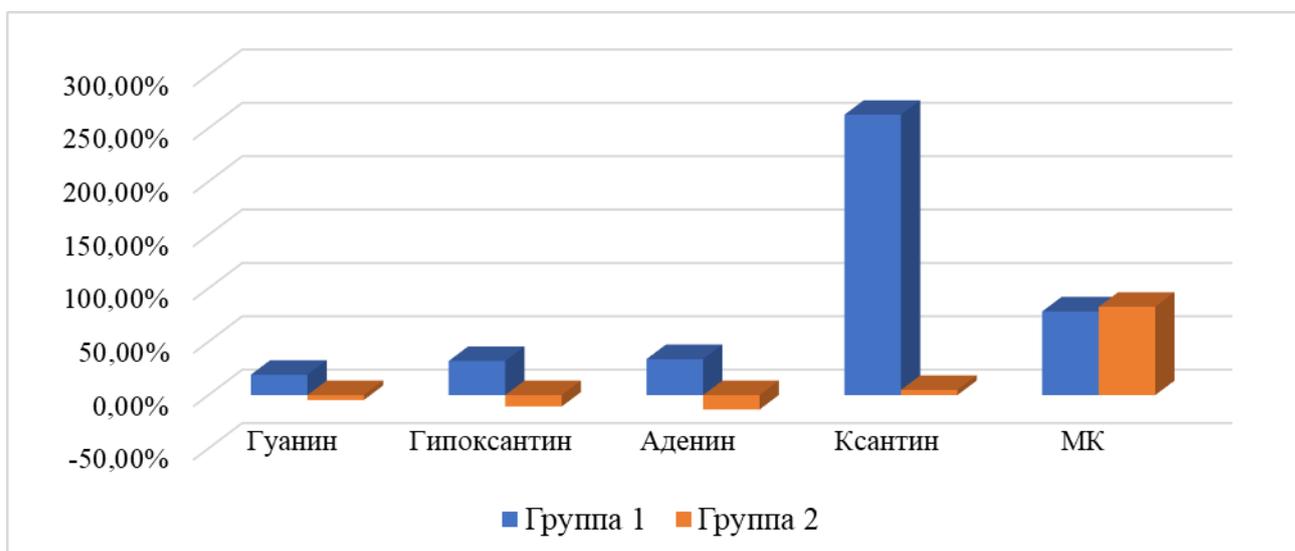


Рисунок 26 – Динамика показателей пуринов в эритроцитах в двух исследуемых группах до и после эксперимента.

Сравнение динамики изменений пуринов в плазме крови на основании расчета средних показателей, представлено на рисунке 27.

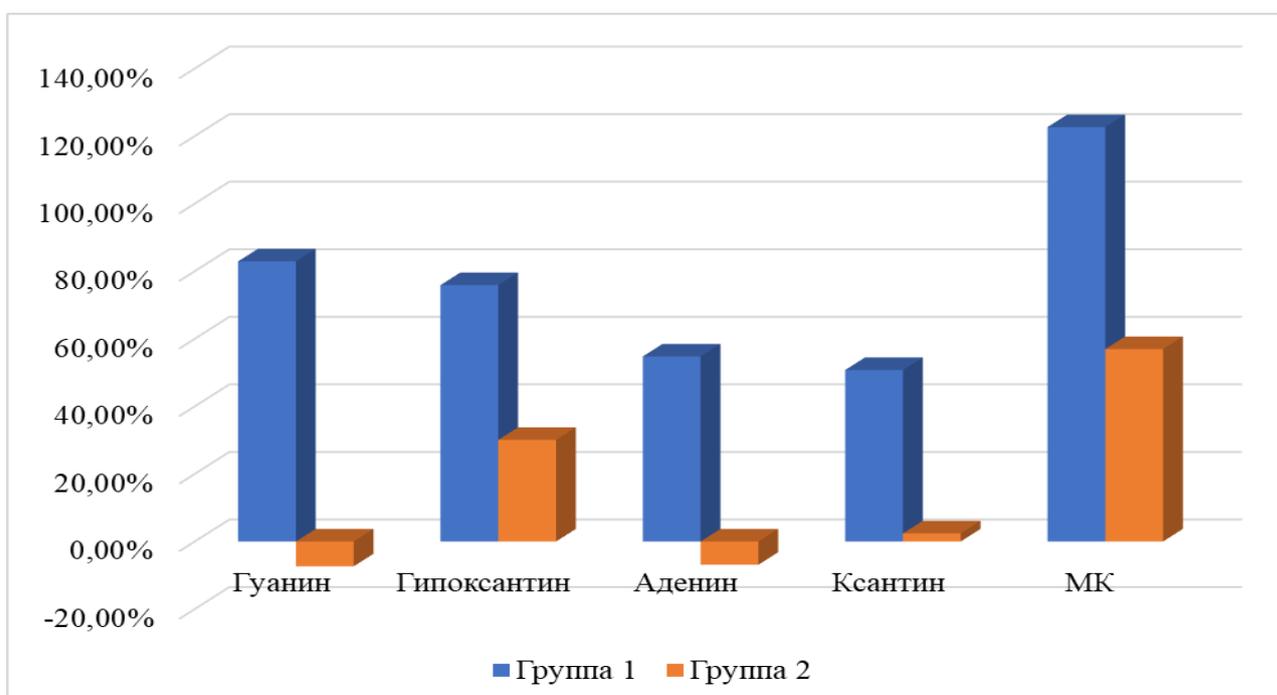


Рисунок 27 – Динамика показателей пуринов в плазме в двух исследуемых группах до и после эксперимента.

На основании расчета средних отмечается значительное увеличение всех показателей в группе 1, в то время как в группе 2 мы выявили снижение уровня гуанина и аденина, и увеличение уровня гипоксантина, ксантина и мочевой кислоты. Так, в группе 1 отмечено увеличение показателей гуанина на 82,91%, гипоксантина на 75,88%, аденина на 54,77%, ксантина на 50,74%, мочевой кислоты на 122,65%. При этом средние показатели в группе 2 характеризуются снижением уровня гуанина на 7,36%, аденина на 6,89% и повышением средних гипоксантина на 30,07%, ксантина на 2,93%, мочевой кислоты на 56,96%. Оценка показателей пуринов в двух группах демонстрируют значительные отличия, которые, вероятно являются прямым следствием условий проведения эксперимента. Как известно внеклеточные пурины помимо сигнальной функции и участия в окислительных процессах выполняют защитную роль, осуществляя нейротрофическую, репарирующую, стабилизирующую мембраны клеток функции. Так, статистически значимые показатели повышения пуринов в группе 1 могут свидетельствовать об активном процессе восстановления мозговой и других тканей и поддержании процессов пуринергической сигнализации. Что мы отмечаем в повышении гипоксантина в эритроцитах ($p=0,0284$) на 20,03%, аденина в эритроцитах ($p=0,0469$) на 17,53%, ксантина в эритроцитах ($p=0,0125$) на 53%, мочевой кислоты в эритроцитах ($p=0,0093$) на 74% и гуанина в плазме ($p=0,0166$) на 83,75% (в 1,83 раза), действуя тем самым как системный организменный, так и местный эритроцитарный домен. При этом все показатели, не демонстрирующие статистической значимости, незначительно выше p -уровня 0,05. При этом результаты в группе 2 демонстрируют статистически значимое увеличение лишь мочевой кислоты в эритроцитах ($p=0,013$) на 41,5% и в плазме ($p=0,028$) на 146,7%. При этом остальные показатели по p -уровню не показывают динамики различий, как и мало отличаются по абсолютным показателям.

Таким образом можно предположить, что хронический стресс в течение всего эксперимента идет по пути окислительной модификации и высокий уровень мочевой кислоты подтверждает течение этого процесса, что является демонстрацией постоянного воздействия стрессорных факторов. В то время как активация пуринергической системы по всем показателям может свидетельствовать о запуске как повреждающих, так и репаративных функций пуринов.

По результатам выявленного повышения уровня пуриновых оснований провели расчет индексов катаболизма, на основании оценки активности ксантиноксидазы. Использовался расчет индексов ксантин/гипоксантин (1 этап окисления), мочевая кислота/ксантин (2 этап окисления) и мочевая кислота/гипоксантин (характеристика двух этапов). ПТГ был использован для оценки тяжести гипоксии (отношение ксантина к гуанину). Необратимость катаболизма пуринов рассчитана с использованием ИПО (см. «Материалы и методы»).

Сравнение относительных показателей пуриновых производных до и после эксперимента в группе 1 и группе 2 проводилось с использованием T – критерия Уилкоксона, для уровня значимости $\alpha=0,05$. В таблице 18

представлены результаты определения показателей пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови животных 1 группы.

По данным таблицы 18 отмечается изменение пуринового обмена в эритроцитах, характеризующееся снижением ИПО ($p=0,013$) на 23,26%, (в 1,30 раз), повышением ПТГ ($p=0,013$) на 18,04%, (в 1,18 раз), повышением К/Гк ($p=0,017$) на 13,09%, (в 1,13 раз), повышением МК/Гк ($p=0,033$) на 55,40%, (в 1,55 раз).

Пуриновый обмен в плазме при этом показывает статистически значимые снижение ИПО ($p=0,028$) на 14,32%, (в 1,16 раз), снижение ПТГ ($p=0,028$) на 9,62%, (в 1,10 раз), снижение К/Гк ($p=0,037$) на 10,12%, (в 1,11 раз), повышение МК/К ($p=0,022$) на 50,60%, (в 1,5 раза). Индекс МК/Гк по медиане имеет тенденцию к повышению, но статистически не значим.

Таблица 18 – Показатели пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови животных группы 1

Показатель	Индекс	Группа 1 до начала эксперимента, n=10			Группа 1 после создания модели ХНУС, n=10			P-уровень
		Медиана	Q25	Q75	Медиана	Q25	Q75	
Пуриновый обмен в эритроцитах	ИПО	1,5475	1,2384	1,7287	1,1875	0,2806	1,3169	0,013*
	ПТГ	0,5581	0,5048	0,6424	0,6588	0,6026	3,5858	0,013*
	К/Гк	0,5178	0,4608	0,6008	0,5856	0,5493	3,3668	0,017*
	МК/К	0,2864	0,2270	0,4134	0,3862	0,0661	0,4241	0,646
	МК/Гк	0,1408	0,1138	0,2362	0,2188	0,2042	0,2560	0,033*
Пуриновый обмен в плазме	ИПО	0,5629	0,5227	0,6173	0,4823	0,4755	0,5079	0,028*
	ПТГ	0,8847	0,8189	1,0702	0,7996	0,7816	0,8096	0,028*
	К/Гк	1,0282	0,9707	1,0950	0,9241	0,8625	0,9429	0,037*
	МК/К	0,6332	0,5347	0,8862	0,9536	0,9299	0,9780	0,022*
	МК/Гк	0,7163	0,5833	0,8425	0,8680	0,7819	0,9198	0,333
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$								

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 28 графически подтверждает полученные результаты изменения пуринового обмена в эритроцитах.

Отмечается снижение ИПО в эритроцитах с уменьшением плотности показателей размаха и значительным уменьшением дисперсии. ПТГ и К/Гк имеют схожие тенденции к значительному уменьшению плотности размаха, его увеличению и увеличением дисперсии, с направлением к приросту. МК/Гк увеличивается, повышая плотность размаха и увеличивая дисперсию в направление прироста. Изменения показателя МК/К не имеют подтверждения статистической достоверности, однако согласно диаграмме размаха сохраняя

уровень показателей снижают плотность размаха и уменьшают верхнюю границу дисперсии.

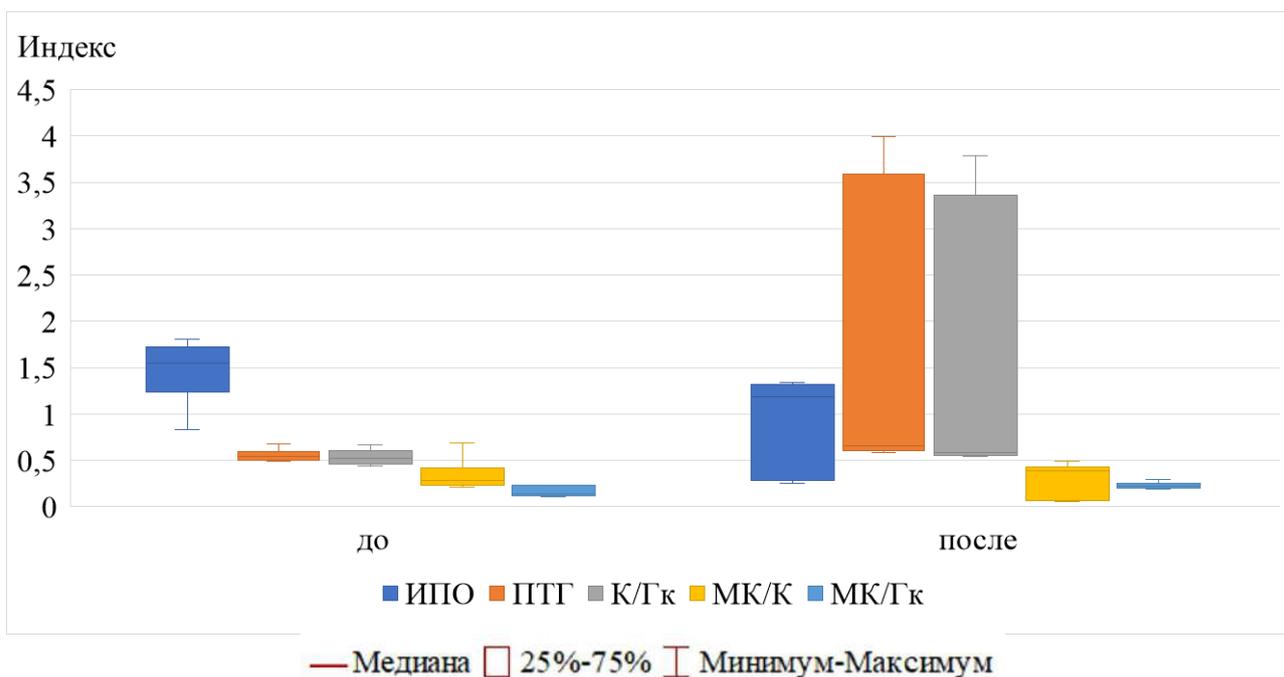


Рисунок 28 – Сравнительная характеристика изменений относительных показателей пуринов в эритроцитах 1 группы до и после эксперимента

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 29 отражает изменения пуринов в плазме.

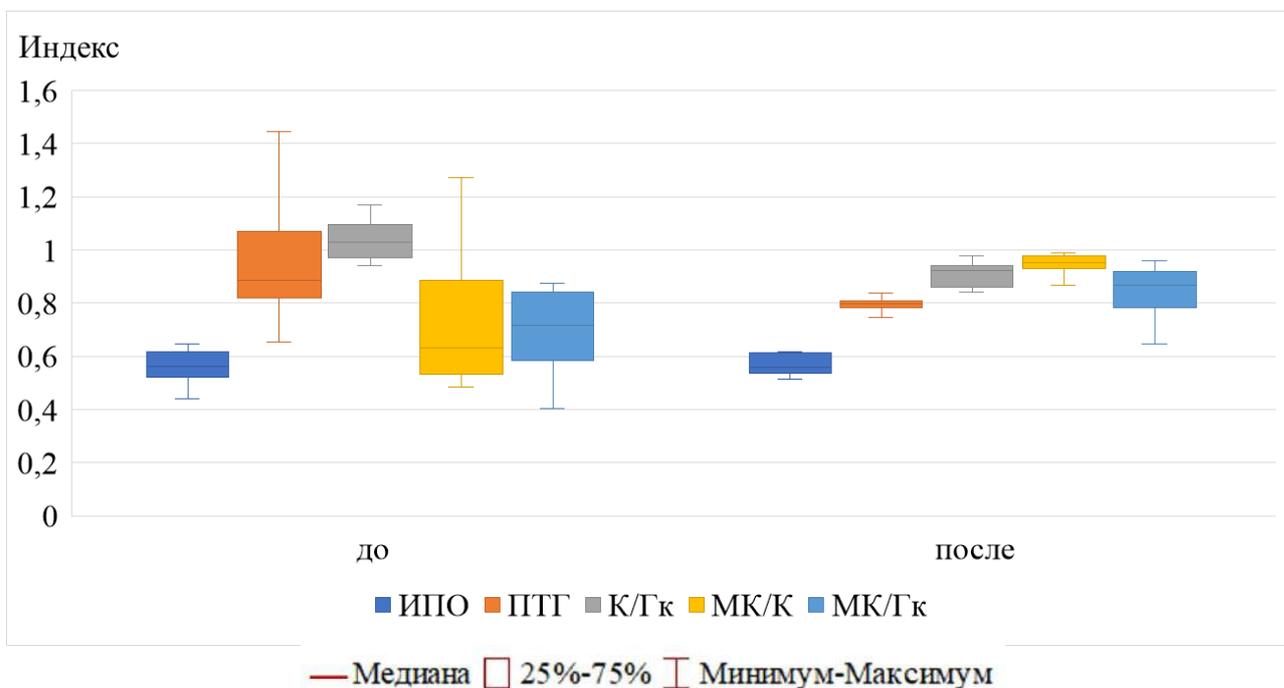


Рисунок 29 – Сравнительная характеристика изменений относительных показателей пуринов в плазме 1 группы до и после эксперимента

Согласно рисунку 29 изменения метаболизма пуринов в плазме демонстрирует снижение ИПО с уплотнением размаха, уменьшения верхней и нижней границ дисперсии, снижение ПТГ со значительным повышением плотности размаха и уменьшением дисперсии, снижение К/Гк с увеличением плотности размаха и уменьшением верхней границы дисперсии, повышение МК/К со значительным повышением плотности показателей размаха, снижением верхней границы дисперсии. МК/ Гк не имеет статистически достоверных изменений по расчетным данным, но по данным диаграммы размаха показывает повышение плотности размаха с сохранением величины верхней дисперсии и незначительного уменьшения нижней дисперсии уровней дисперсии. При этом отмечается смещение медианы в сторону увеличения показателя.

Результаты определения показателей индексов пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови животных 2 группы представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Относительные показатели пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови животных группы 2

Показатель	Индекс	Группа 2 до начала эксперимента, n=10			Группа 2 после создания модели ХНУС, n=10			Р-уровень
		Медиана	Q25	Q75	Медиана	Q25	Q75	
Пуриновый обмен в эритроцитах	ИПО	1,6359	1,5200	1,7338	1,3082	1,1335	1,3859	0,005*
	ПТГ	0,5348	0,5216	0,5501	0,5828	0,5576	0,6410	0,139
	К/Гк	0,4723	0,4627	0,5039	0,5561	0,5185	0,5971	0,009*
	МК/К	0,2436	0,2297	0,3243	0,4003	0,3785	0,4781	0,009*
	МК/Гк	0,1230	0,1083	0,1597	0,2189	0,1961	0,2856	0,007*
Пуриновый обмен в плазме	ИПО	0,6240	0,5878	0,6757	0,5881	0,5073	0,6230	0,139
	ПТГ	0,9097	0,8507	0,9344	0,7875	0,7650	1,1963	0,386
	К/Гк	1,0014	0,9327	1,0675	0,9334	0,8708	1,1104	0,508
	МК/К	0,5918	0,5654	0,6147	0,8042	0,7870	0,9342	0,005*
	МК/Гк	0,5865	0,5528	0,6571	0,7585	0,7281	1,0013	0,074
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$								

По результатам данных, представленных в таблице 19 статистически достоверные изменения в группе 2 отмечаются в эритроцитах и плазме. Пуриновый обмен в эритроцитах демонстрирует статистически значимые: снижение ИПО ($p=0,005$) на 20,03%, (в 1,25 раз), повышение К/Гк ($p=0,009$) на 17,74%, (в 1,18 раз), повышение МК/К ($p=0,009$) на 64,32%, (в 1,64 раза), повышение МК/Гк ($p=0,007$) на 77,97%, (в 1,78 раз). При этом отмечается незначительное повышение ПТГ в эритроцитах ($p=0,139$) на 8,98%.

Пуриновый обмен в плазме характеризуется статистически значимым повышением МК/К ($p=0,005$) на 35,89%, (в 1,36 раза). При этом отмечаются

изменения и других показателей, не подтверждающие статистически свою значимость: снижение ИПО ($p=0,139$) на 23,13%, (в 1,3 раза), снижение ПТГ ($p=0,386$) на 13,43%, снижение К/Гк ($p=0,508$) на 6,79%, (в 1,07 раз), повышение МК/Гк ($p=0,074$) на 29,33%, (в 1,29 раз).

Диаграмма размаха, представленная на рисунке 30 подтверждает полученные результаты изменения индексов пуринового обмена группы 2 в эритроцитах. Отмечается снижение ИПО с относительным сохранением плотности размаха и увеличением верхней границы дисперсии при сохранении величины нижней дисперсии, увеличение ПТГ со снижением плотности размаха и уменьшением верхней дисперсии. Индекс К/Гк увеличивается со снижением верхней границы дисперсии до верхнего квартиля и увеличением нижней дисперсии. Индекс МК/К увеличивается, практически без изменений величин дисперсии, как и в случае МК/Гк, где отмечается повышение уровня показателя с уменьшением плотности размаха.

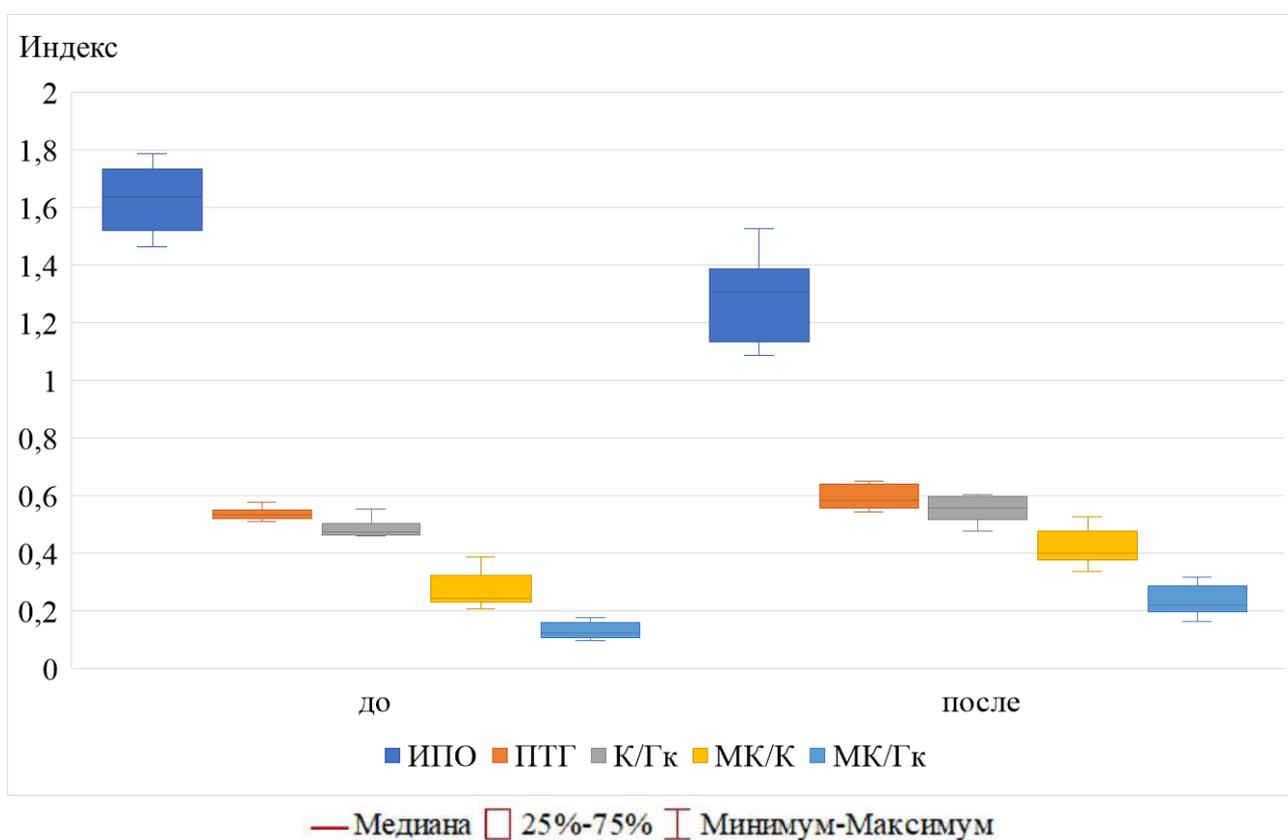


Рисунок 30 – Сравнительная характеристика изменений относительных показателей пуринов в эритроцитах 2 группы до и после эксперимента

Диаграмма размаха, для исследуемых показателей в плазме крови представлена на рисунке 31. Как следует из таблицы 19 статистически значимое увеличение показателей отмечается лишь для индекса МК/К, что на рисунке отражено как смещение показателей данных в сторону увеличения, снижение плотности размаха и увеличение верхней дисперсии. Изучение других показателей демонстрирует снижение ИПО с исчезновением нижней дисперсии,

значительного уменьшения плотности размаха с исчезновением верхней дисперсии. Показатель К/Гк сохраняет свой уровень со смещением медианы в сторону уменьшения, снижением плотности разброса и увеличением размеров верхней дисперсии. Изменения индекса МК/Гк характеризуется увеличением показателей со смещением медианы к нижнему квартилю, снижением плотности размаха и исчезновением верхней дисперсии.

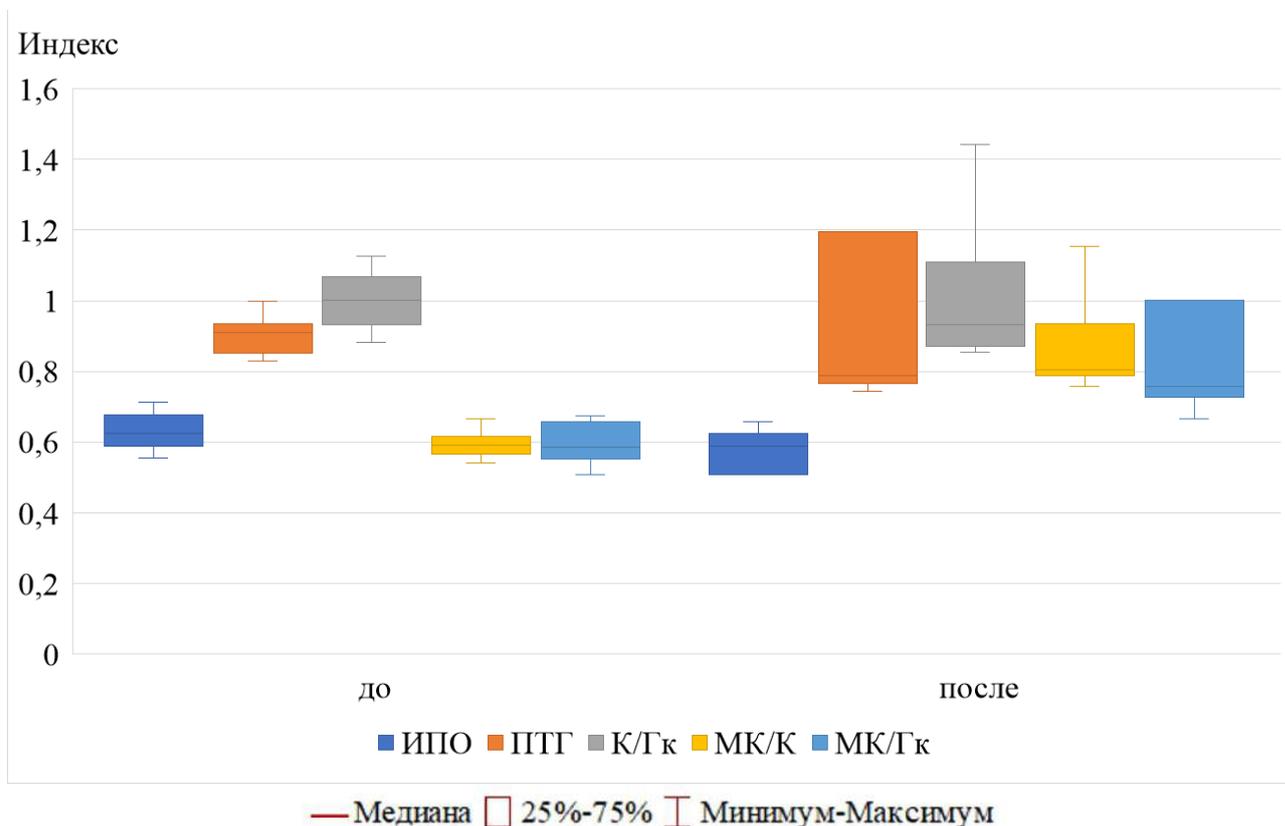


Рисунок 31 – Сравнительная характеристика изменений относительных показателей пуринов в плазме 2 группы до и после эксперимента

Представленная на рисунке 32 динамика изменений средних величин в двух исследуемых группах показателей катаболизма пуринов в эритроцитах демонстрирует схожую направленность с явно прослеживающейся разницей изменений величин. Так, все показатели индексов пуринового обмена в эритроцитах повышаются при явном снижении ИПО в группе 1 на 33%, в группе 2 на 24%. Индекс ПТГ значительно возрастает в группе 1 на 186%, в то время как прирост во 2 группе составляет 11%. Схожая картина наблюдается при расчете индекса К/Гк, где в группе 1 мы видим увеличение показателей на 176%, а в группе 2 на 29%. Обратная картина отмечается по индексам МК/К, где увеличение индекса группы 1 составляет 4%, а групп2 81% и МК/Гк, где в группе 1 увеличение составило 47%, тогда как в группе 2 увеличилось на 176%.

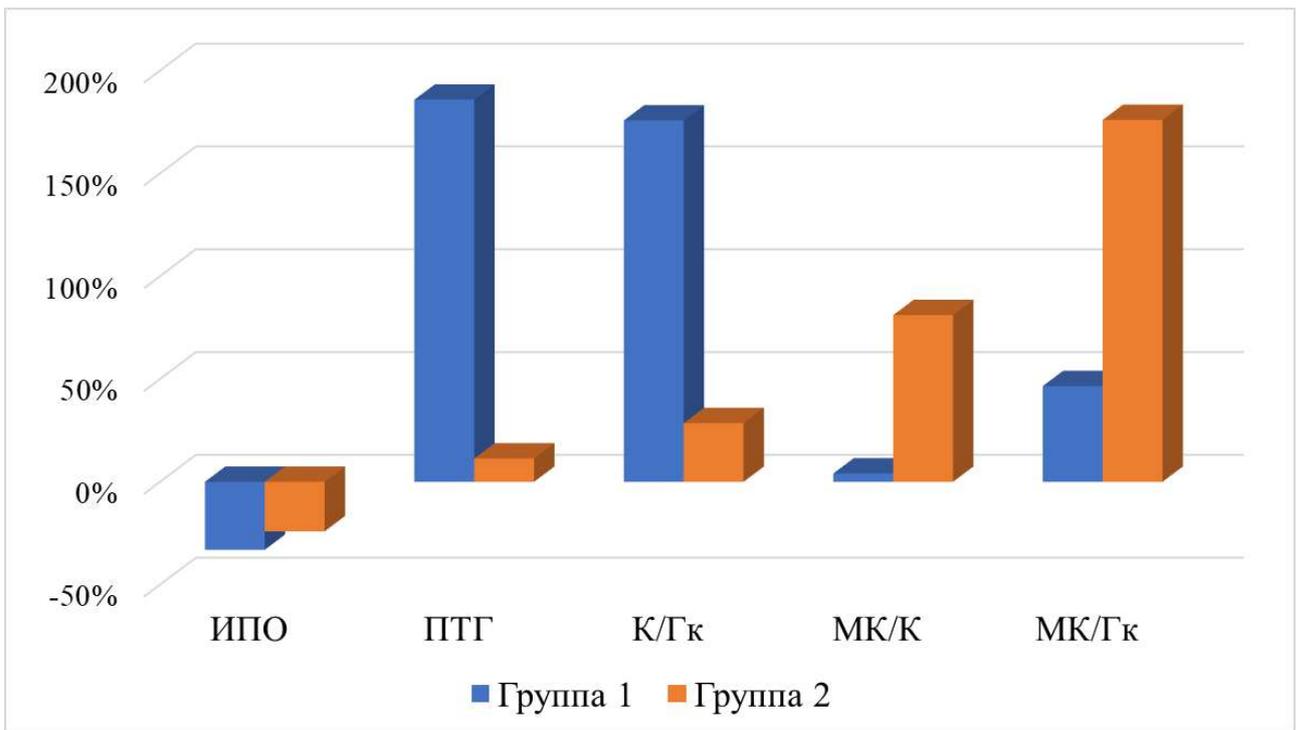


Рисунок 32 – Динамика индексов относительных показателей пуринов в эритроцитах в двух исследуемых группах до и после эксперимента.

Сравнение показателей средних величин обмена пуринов в плазме представлено на рисунке 33.

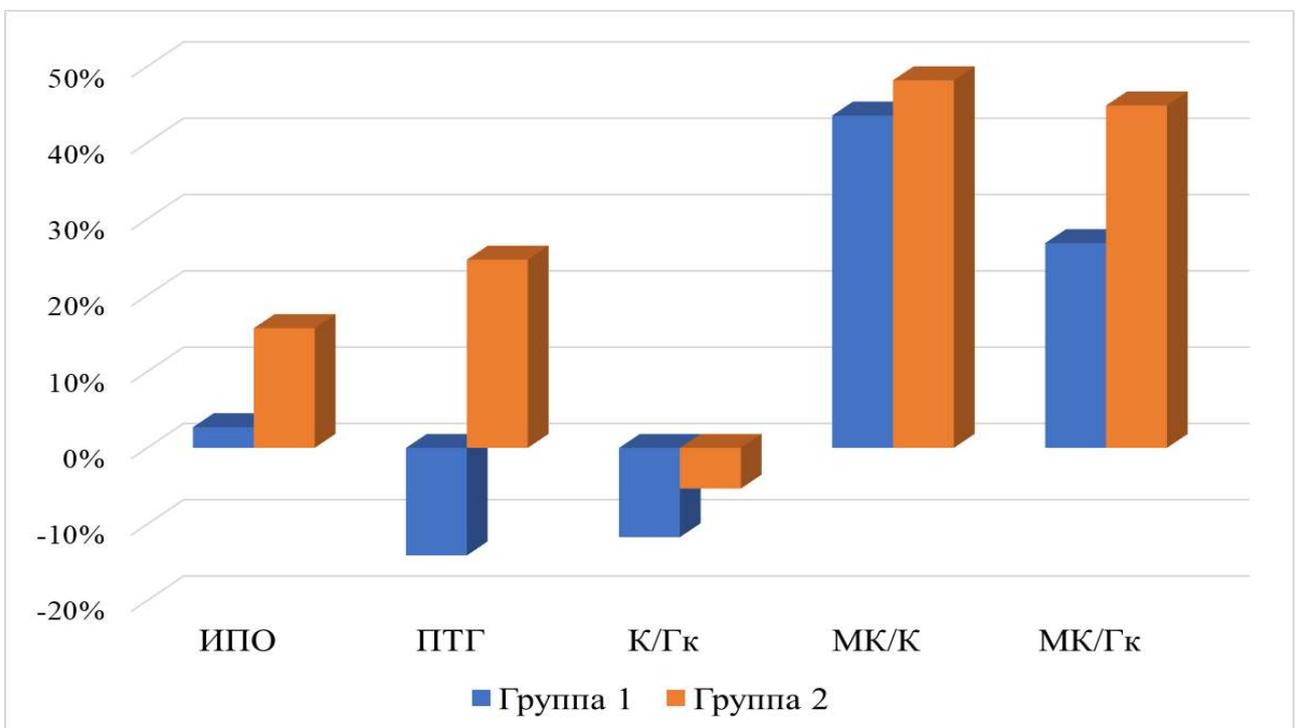


Рисунок 33 – Динамика индексов относительных показателей пуринов в плазме в двух исследуемых группах до и после эксперимента.

По представленным на рисунке 33 данным, изменения катаболизма пуринов в плазме носили отличный от катаболизма в эритроцитах характер, имея в большинстве случаев однонаправленную динамику, исключая ПТГ. Так ИПО в плазме возрастает в группе 1 на 3%, тогда как в группе 2 на 16%. ПТГ в группе 1 демонстрирует уменьшение на 14%, и увеличение в группе 2 на 25%. Индекс К/Гк снижается в двух группах, составляя 12% в группе 1, и в группе 2 составляя 5%. Увеличение показателей отмечается при расчете индексов МК/К в группе 1 на 44% и в группе 2 на 48% и МК/Гк в группе 1 на 27%, в группе 2 на 45%.

Относительные показатели пуринового обмена являются индикаторами тяжести гипоксии и активности ксантиноксидазы, фермента обеспечивающего антигипоксикантную защиту при реакциях пуринового обмена. По результатам сравнения в группе 1 в эритроцитах отмечается снижение ИПО ($p=0,013$) на 23,26%, повышение ПТГ ($p=0,013$) на 18,04%, повышение К/Гк ($p=0,017$) на 13,09%, , повышением МК/Гк ($p=0,033$) на 55,40%. Полученные результаты отражают снижение индекса пуринового обмена с увеличением тяжести гипоксии, активности первого этапа работы ксантиноксидазы по превращению гипоксантина в ксантин и увеличение показателя МК/Гк, характеризующего оба этапа активации ксантиноксидазы, в данном случае за счет первого этапа. Данные показатели свидетельствуют об устойчивом взаимодействии систем антигипоксикантной защиты в эритроцитах.

Пуриновый обмен в плазме при этом показывает статистически значимые снижение ИПО ($p=0,028$) на 14,32%, снижение ПТГ ($p=0,028$) на 9,62%, снижение К/Гк ($p=0,037$) на 10,12%, повышение МК/К ($p=0,022$) на 50,60%, по данным которого можно предположить нарастание гипоксии в плазменном домене, истощении активности ксантиноксидазы и запуске второго этапа окисления пуринов и превращения ксантина в мочевую кислоту. Так, отмечается, что процессы окисления в плазме протекают более активно и запуск их начинается раньше, чем в эритроцитах, что характеризует преобладание системного окислительного процесса.

При этом показатели группы ХНУС характеризуются преобладанием ограниченного или локального процесса в эритроцитах по данным снижения ИПО ($p=0,005$) на 20,03%, повышения К/Гк ($p=0,009$) на 17,74%, повышения МК/К ($p=0,009$) на 64,32%, повышения МК/Гк ($p=0,007$) на 77,97%. Отмеченные изменения характеризуют активацию необратимого катаболизма пуринов за счет процессов двух этапов окисления ксантиноксидазой превращения Гк в К и далее в МК.

В плазме крови мы отмечаем статистически достоверное значение прироста показателя МК/К ($p=0,005$) на 35,89%, характеризующего второй этап превращения ксантина в мочевую кислоту. На основании данных, не имеющих статистической значимости, можно предположить, что процесс системного окислительного стресса, протекающий в плазме на фоне хронического стресса, имеет низкую степень интенсивности и доступный нам анализ абсолютных значений медиан и квартилей свидетельствует о низкой активности ксантиноксидазы и нарастающей гипоксии.

Таким образом, процессы пуринового обмена в группах сравнения имеют значительно отличающиеся тренды.

3.1.4 Динамика изменения уровня кортизола в плазме крови крыс

Сравнение показателей кортизола в группе контроля

С целью углубленного изучения этапности прироста уровней кортизола провели множественные сравнения с использованием промежуточных показателей еженедельного забора кортизола в каждой исследуемой группе. Для сравнения показателей кортизола в группе контроля (группа 1) и группе с моделью ХНУС (группа 2) использовали непараметрический Критерий Фридмана. По результатам проведенного анализа выявили наличие статистически значимых различий ($p=0,00003$) в уровне кортизола в зависимости от номера забора крови. Для попарного сравнения уровня кортизола в четырех заборах крови, использовали непараметрический критерий Уилкоксона с поправкой Бонферрони (скорректированный уровень значимости $\alpha=0,013$). Результаты множественных сравнений исследуемых животных 1 группы приведены в таблице 20.

Как следует из данных таблицы 20 статистически значимые различия отсутствуют между вторым и третьим, а также третьим и четвертым заборами крови, в то время как прирост кортизола за первую неделю участия в эксперименте составляет 446,39% (увеличивается в 5,46 раз), ($p=0,005062$), увеличение показателя в последнюю неделю (3 и 4 забор крови) отмечается на 36% (в 1,37 раз), ($p=0,021825$), однако не подтверждает статистической значимости основываясь на поправке Бонферрони.

Таблица 20 – Множественные сравнения (p-уровни) уровня кортизола в четырех заборах крови в группе 1.

	Кортизол, 1 забор крови	Кортизол, 2 забор крови	Кортизол, 3 забор крови	Кортизол, 4 забор крови
Кортизол, 1 забор крови	Me (Q25; Q75) 13,99 (12,21; 15,50)	0,005062*	0,005062*	0,005062*
Кортизол, 2 забор крови	0,005062*	Me (Q25; Q75) 76,44 (53,78; 81,06)	0,444587	0,009345*
Кортизол, 3 забор крови	0,005062*	0,444587	Me (Q25; Q75) 93,48 (61,22;98,63)	0,021825
Кортизол, 4 забор крови	0,005062*	0,009345*	0,021825	Me (Q25; Q75) 127,7 (71,81; 136,7)
Примечание –* Статистически значимые различия если $p \leq 0,013$				

Сравнение показателей кортизола в группе ХНУС

Попарное последовательное сравнение уровня кортизола у исследуемых животных группы 2 приведено в таблице 21.

По данным таблицы 21 статистически значимых различий при последовательном анализе показателя уровня кортизола не отмечается. Мы наблюдаем постепенный прирост кортизола и к завершению эксперимента не

отметили статистически значимых отличий от исходного показателя данной группы. Согласно статистически значимому уровню отмечается достоверное различие при увеличении показателей от 1 к 3 и от 2 к 4 заборах крови у животных 2 группы. Увеличение показателей между 1 и 3 заборами крови, которое составило 106,2% (в 2,062 раза) и между 2 и 4 заборами на 199,56% (в 2,96 раза).

Таблица 21 – Множественные сравнения (р-уровни) уровня кортизола в четырех заборах крови в группе 2.

	Кортизол, 1 забор крови	Кортизол, 2 забор крови	Кортизол, 3 забор крови	Кортизол, 4 забор крови
Кортизол, 1 забор крови	Me (Q25; Q75) 50,00 (18,34; 72,48)	0,721277	0,006911*	0,016605
Кортизол, 2 забор крови	0,721277	Me (Q25; Q75) 42,83 (15,12; 72,71)	0,074463	0,012516*
Кортизол, 3 забор крови	0,006911*	0,074463	Me (Q25; Q75) 103,1 (61,22; 126,9)	0,444587
Кортизол, 4 забор крови	0,016605	0,012516*	0,444587	Me (Q25; Q75) 128,3 (62,67; 135,9)
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,013$				

При этом проведение анализа показателей по медиане в обеих группах демонстрирует различную динамику. Так в группе 1 мы отметили неуклонное нарастание показателя кортизола, в то время как в группе 2 после 1 забора отмечается некоторое «плато» с незначительным снижением уровня кортизола и последующим резким повышением, достигая к завершению эксперимента показателя группы 1. Данная динамика отражена на диаграмме размаха, представленной на рисунке 34.

При анализе изменений диаграммы размаха для двух групп, участвующих в эксперименте, представленном на рисунке 34, в группе 1 при втором заборе крови отмечается значительное увеличение размаха и, как верхней, так и нижней дисперсии при смещении медианы и размаха в сторону увеличения. При этом нижняя граница дисперсии сохраняет положение своей границы на уровне нижней границы размаха 1-го забора крови. В последующем, при третьем заборе крови смещение размаха в сторону увеличения менее значительно, однако плотность его снижается и уменьшается величина верхней дисперсии. Четвертый забор крови демонстрирует повышение уровня размаха, медианы и уменьшение верхней и нижней дисперсии, при этом отмечается снижение плотности размаха.

При рассмотрении изменений в группе 2, где моделировался ХНУС, отмечается сравнительно равные показатели размаха при первом и втором заборе крови и приближенные медианы, однако при 2-м заборе крови величина верхней дисперсии является максимальной из всех представленных на рисунке, а медиана имеет более низкое значение чем при 1-м заборе крови. В последующем третий забор крови демонстрирует резкое увеличение показателя кортизола с

сохранением плотности размаха, уменьшением верхней границы дисперсии и увеличением нижней дисперсии. При этом медиана в 3 заборе крови значительно увеличивается, достигая уровня, несколько выше, чем в группе 1, этого же забора крови и выше верхней границы размаха, увеличиваясь на 2,4 раза. Четвертый забор крови не показывает значительного изменения плотности размаха, характеризуясь лишь некоторым его снижением, при котором отмечается увеличение медианы и некоторое увеличение верхней границы размаха с уменьшением величины нижней дисперсии и малым увеличением верхней дисперсии.

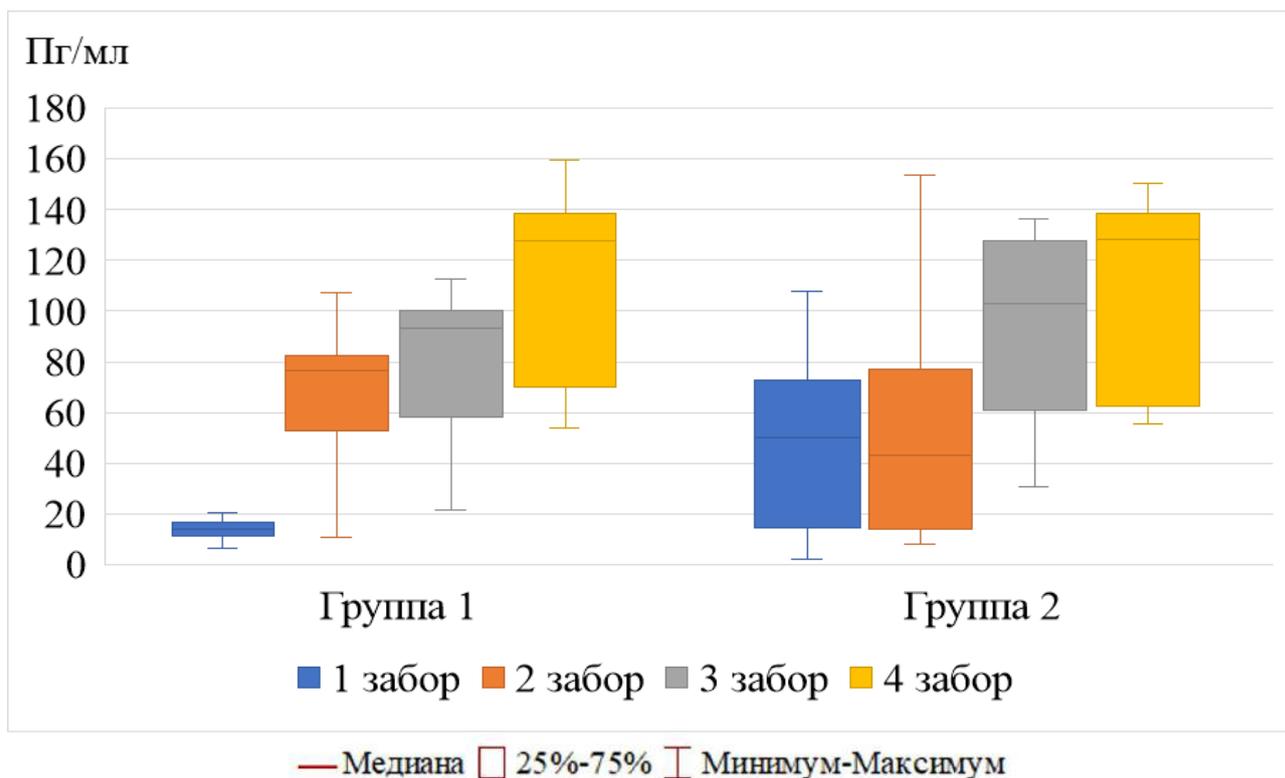


Рисунок 34 – Сравнительная характеристика изменений уровня кортизола в исследуемых группах при еженедельном измерении

Представленный на рисунке 35 график демонстрирует изменение концентрации кортизола в крови экспериментальных групп и тренды нарастания его уровня от исходных данных до начала эксперимента к завершению формирования модели ХНУС в группе 2 и тренд изменения уровня кортизола в группе 1, которая не подвергалась воздействию условий ХНУС, но так же проходила испытания в поведенческих тестах и подвергалась процедуре забора крови.

Результаты показывают схожие тренды в двух группах, при которых к завершению эксперимента уровень показателей уравнивается. Однако динамика изменения показателей имеет различия, в частности во 2-й и 3-й контрольных точках.

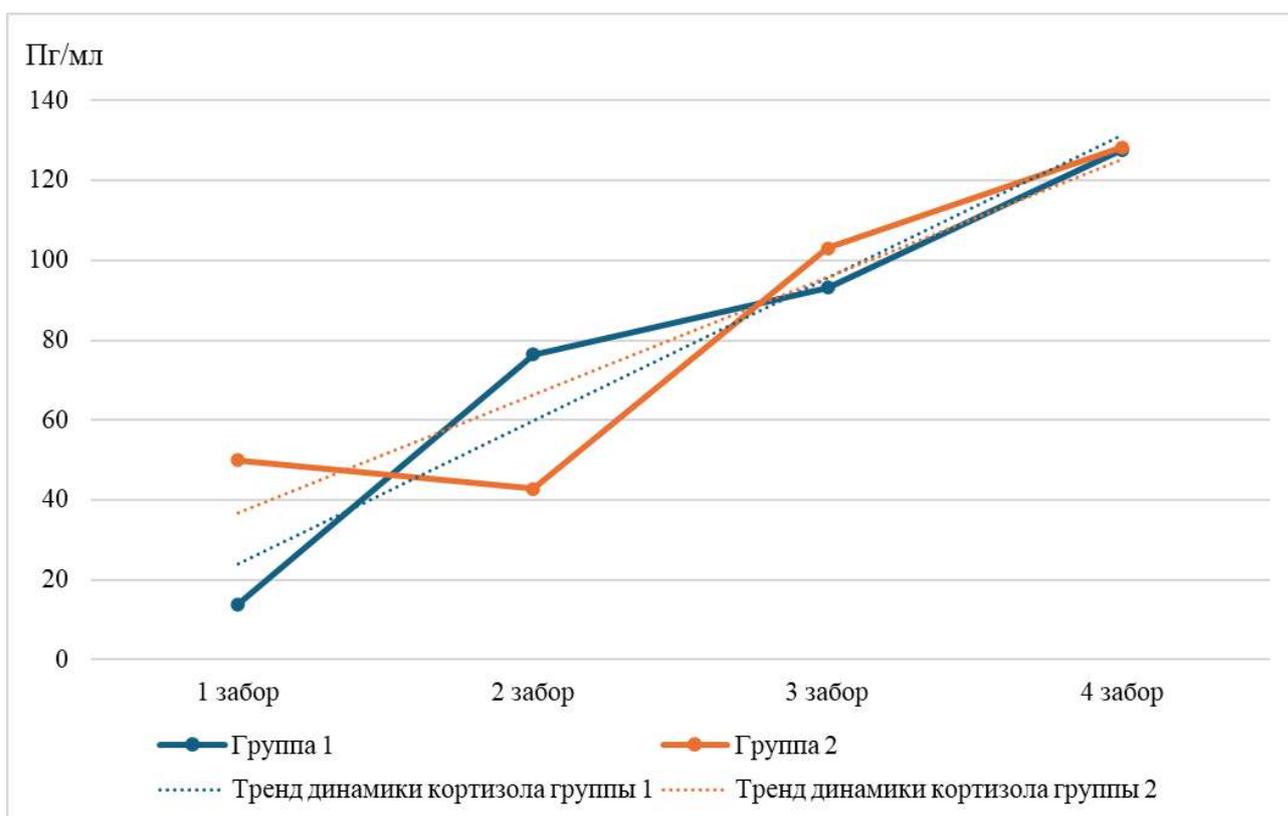


Рисунок 35 – Изменение средней концентрации кортизола в двух группах эксперимента

Вопросом нашего исследования о динамике изменения кортизола в плазме крови было изучение эффекта непосредственного воздействия, оказываемого в нашем эксперименте, так как на основании имеющихся литературных источников имеются данные о широкой вариативности изменений уровня кортизола при сравнении в различных тестах, изучении реакции ГГН оси при различных состояниях, в том числе и психической сферы как у людей, так и у животных в лабораторных условиях, что наиболее полно рассмотрено в обзорной работе Talha Iqbal et al. [386]. Отмечается, что итоговый показатель кортизола не всегда соответствует степени стресса либо стресс-индуцированного расстройства, что было освещено еще в 2014 году Tara Kidd et al. [387, 388]. При хроническом стрессе авторы исследований представляли результаты, при которых отмечалось как повышение, понижение, так и отсутствие изменений в показателях кортизола от принятых норм либо от исходных значений. Основываясь на имеющихся данных, полученные нами результаты могут служить дополнением к имеющемуся пониманию изменений в изучении влияния различного рода факторов на живой организм и понимание роли кортизола в формировании эффекта стресс-индуцированных расстройств.

Таким образом, в нашей работе основной акцент смещен на динамику изменений кортизола в плазме крови в условиях эксперимента.

На рисунке 36 представлены данные изменения уровня кортизола в динамике относительно базового уровня (до проведения эксперимента). Анализ данных сравнения динамики изменения уровня кортизола в группах

эксперимента исследуемых животных между контрольными точками от момента начала эксперимента демонстрирует значительное увеличение уровня кортизола в обеих группах исследуемых животных.

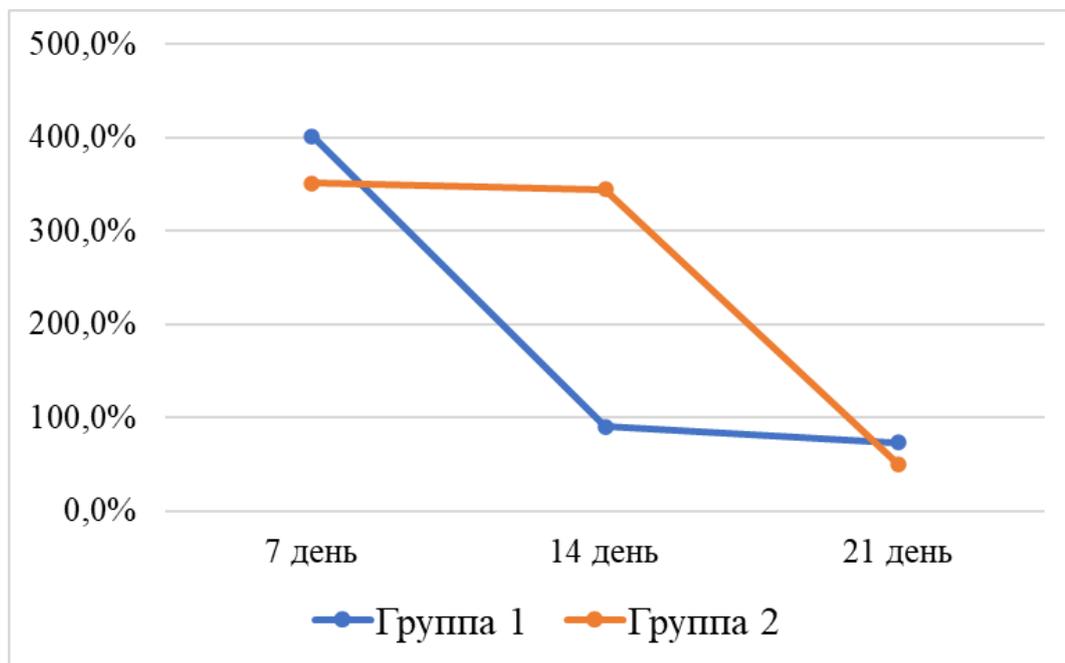


Рисунок 36 – Динамика изменений процента средних показателей кортизола между заборами крови

Для животных группы 1 в течение первой недели эксперимента отмечалось увеличение уровня кортизола в крови более, чем в 4 раза (401,7%) по сравнению с начальным уровнем. Такая динамика, на наш взгляд, может служить дополнительным подтверждением, что само проведение исследования является для животных самостоятельным стрессирующим фактором, который вызывает напряжение стресс-реагирующих систем. К концу второй недели у этих же животных наблюдалось снижение скорости изменения уровня кортизола в крови относительно предыдущей точки забора. Уровень прироста составил 90,4% относительно предыдущей точки забора. Оценка изменения уровня кортизола на 21-й день проведения эксперимента продемонстрировала дальнейшее снижение скорости прироста кортизола в крови. Прирост на данной точке наблюдения составил 73,2%. Таким образом мы можем констатировать увеличение уровня кортизола в крови экспериментальных животных, при этом динамика изменения носит затухающий характер, но к 21 дню не прекращается. Такие изменения на наш взгляд могут быть связаны с тем, что животные, подвергающиеся периодическому стороннему воздействию (проведение поведенческих тестов, взятие крови) в рамках экспериментального исследования находятся в состоянии переменного стресса. Такое состояние приводит к тому, что стресс-индуцируемые гормональные системы также реагируют на внешние стрессирующие воздействия, но через некоторое время сложившаяся ситуация

начинает восприниматься как привычная и выраженность реакции систем организма снижается.

У животных второй группы через неделю после начала эксперимента также наблюдалось увеличение уровня кортизола в крови на 351,4%. Статистически значимых отличий с таким же показателем первой группы обнаружено не было. На 14-й день после начала проведения эксперимента выраженность динамики увеличения уровня кортизола в крови не изменилась. Разница в уровне кортизола в крови между 7-м и 14-м днем составила 344,4%. Таким образом, мы можем говорить о том, что формирование хронического непредсказуемого стресса вызывает более выраженную реакцию стресс-индуцируемых гормональных систем, чем формирование умеренного периодического стресса. На 21-й день после начала эксперимента динамика увеличения кортизола в крови носила менее выраженный характер. Разница уровня кортизола в крови между 14-м и 21-м днем составила 49,7%.

Таким образом, анализируя данные изменения уровня кортизола в крови исследуемых животных, мы можем сказать, что несмотря на то, что в обеих группах наблюдалась отчетливая динамика роста уровня кортизола в крови, она была выражена по-разному в зависимости от воздействия стрессирующего фактора. Воздействие хронического непредсказуемого умеренного стресса вызывало более активную продукцию кортизола в течение всего периода проведения эксперимента; при этом скорость прироста не снижалась в течение 14 дней после начала эксперимента, в отличие от воздействия периодического стрессирующего фактора. Тем не менее, самостоятельная оценка уровня кортизола в крови не может считаться достаточным критерием для оценки уровня стресса, учитывая высокую вариативность данного показателя.

3.1.5 Оценка показателей окислительного метаболизма в мозге крыс

Как представлено в таблице 22, РКПБ в тканях головного мозга во 2 группе исследуемых животных выше показателей 1 группы ($p=0,001$) на 146 % (в 2,47 раз), МДА ($p=0,002$) на 96% (в 1,96 раз). При этом активность каталазы между двумя группами не имеет статистически значимых отличий и в абсолютных показателях имеет сопоставимые значения по медиане и квартилям.

Таблица 22 – Показатели КА, РКПБ, МДА по группам и сравнение групп с использованием U критерия Манна-Уитни ($\alpha=0,05$)

Показатель	1 группа (контроль)			2 группа (ХНУС)			U	p-уровень
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75		
Каталазная активность	0,214	0,200	0,222	0,232	0,222	0,243	22,00	0,060
РКПБ	0,030	0,025	0,033	0,074	0,070	0,078	5,500	0,001*
МДА	0,028	0,025	0,028	0,055	0,050	0,066	7,000	0,002*
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$								

Диаграмма размаха на рисунке 37 демонстрирует схожие показатели КА в двух группах. В группе 1 отмечается меньшая плотность размаха и смещение его нижней границы в сторону меньших показателей, величина нижней дисперсии меньше таковой во второй группе. В группе 2 отмечается более высокая плотность размаха со смещением его границ в сторону увеличения показателей с расширением нижней границы дисперсии, не достигающей таковой в 1 группе и уменьшение размеров верхней дисперсии, сопоставимой с верхней границей группы 1. Таким образом, не имея достоверно значимых отличий КА между группами согласно U критерия Манна-Уитни ($\alpha=0,05$), диаграмма размаха демонстрирует присутствие отличий в двух исследуемых группах с увеличением показателей в группе 2. Показатели имеющие статистически достоверные различия – РКПБ ($p=0,001$) и МДА ($p=0,002$) представлены на рисунке 37 и имеют специфичные графические характеристики. РКПБ в первой группе ниже РКПБ группы 2, но соотносится с ней по размаху и имеет более высокий уровень верхней границы дисперсии, при этом нижняя граница дисперсии объединена с нижней границей размаха. МДА в группе 1 имеет более низкий показатель, представлена плотнее и с крайне низкой дисперсией, что подтверждает результаты расчета таблицы 22. Согласно диаграмме размаха МДА группы 2 имеет меньшую плотность размаха, превышает показатели 1 группы, имеет более низкие показатели нижней границы дисперсии и ее величину, в то время как верхняя дисперсия незначительно больше таковой в группе 1.

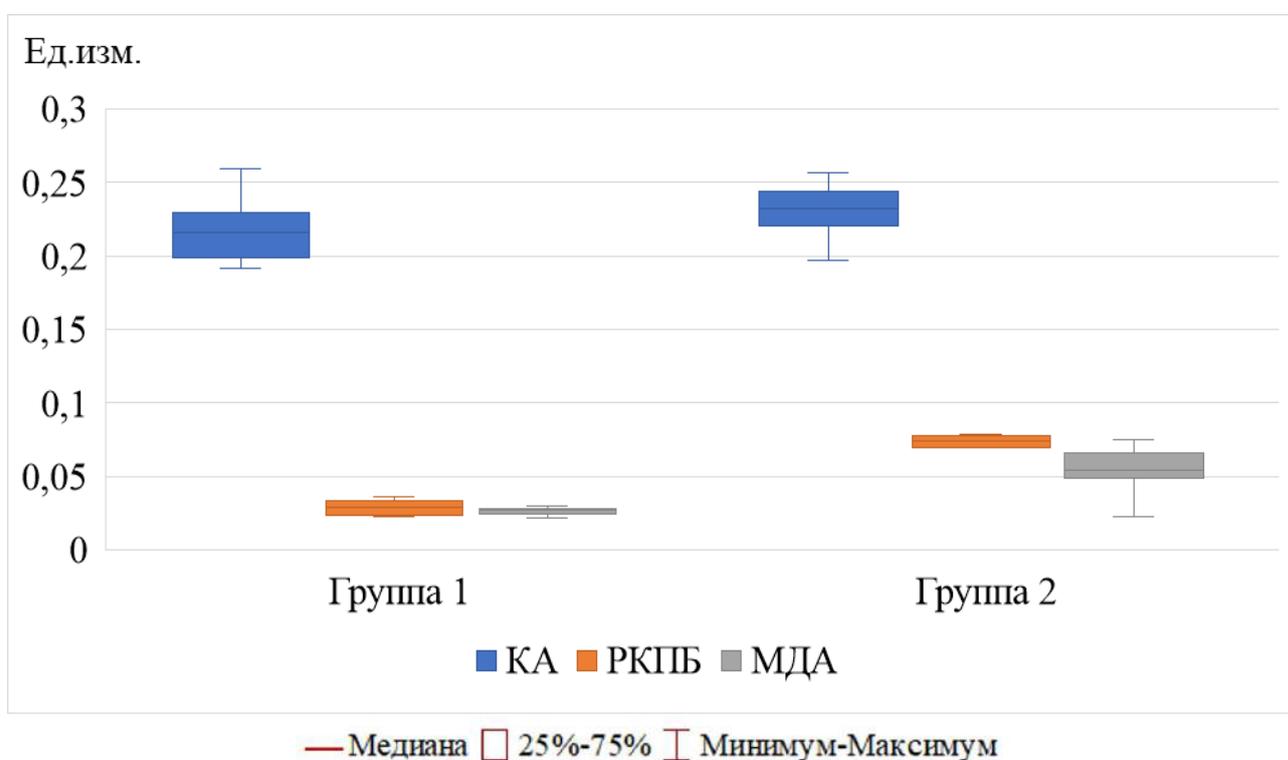


Рисунок 37 – Сравнительная характеристика КА, РКПБ, МДА в мозге крыс двух исследуемых групп

Таким образом в результате формирования модели ХНУС было получено подтверждение различий в ходе процессов окислительного метаболизма в ткани головного мозга на основании значительного повышения уровня РКПБ ($p=0,001$) на 146,7% и МДА ($p=0,002$) на 96,4%, что свидетельствует об активации окислительных процессов в головном мозге.

При этом показатель каталазной активности на момент исследования в группе 2 выше, чем в группе 1 на 8,4%, что не позволяет предположить направленность изменений антиоксидантной каталазной активности, ввиду сравнения групп, подвергавшимся определенному типу воздействия. Известно, что при повышении активности окислительных процессов можно отмечать снижение каталазной активности. Для понимания динамики процесса требуется сравнение показателя с полностью интактными животными и в нашем исследовании изучение показателя на фоне терапии.

3.1.6 Оценка патоморфологических изменений в мозге крыс

Морфологическая характеристика структурного состояния головного мозга в контрольной группе без моделирования «Хронического непредсказуемого умеренного стресса»

При обзорном гистологическом исследовании головного мозга, представленном на рисунке 38, после завершения эксперимента, на 22 сутки контрольной группы, 1 серии опыта было отмечено полнокровие сосудов, отек и макрофагальная инфильтрация мягкой мозговой оболочки, в стенках артериол наблюдаются фибриноидные изменения, представленные на рисунке 38 а. В ткани вещества головного мозга развивался перичеллюлярный отек и умеренная рассеянная глиальная реакция, выявлялись капилляроостазы отмеченные на рисунке 38 б.

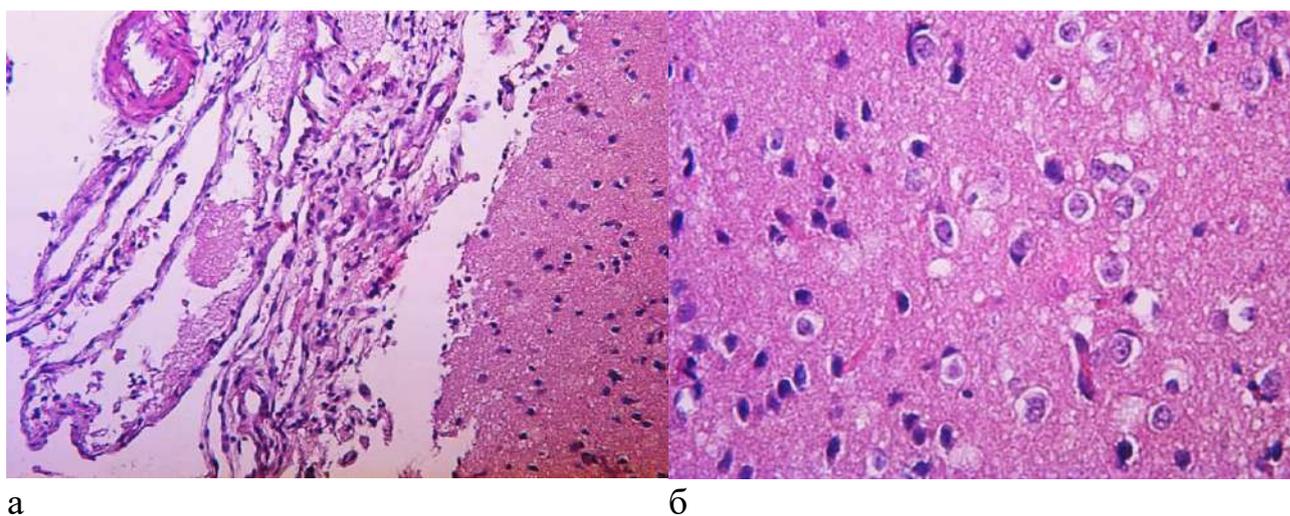


Рисунок 38 – Контрольная группа (Группа 1).

Головной мозг: полнокровие сосудов и отек мягкой мозговой оболочки и макрофагальная инфильтрация, фибриноидные изменения стенок артериол (а); перичеллюлярный отек, глиальная реакция (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: а – X100; б – X 200.

На рисунке 39 представлены признаки нарушения кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла, которые проявляются развитием периваскулярного отека и зоной энцефаломалации, многие капилляры спазмированы, выявляется сладжирование эритроцитов, что характеризуется пристеночным склеиванием эритроцитов, обозначенное как сладж-синдром.

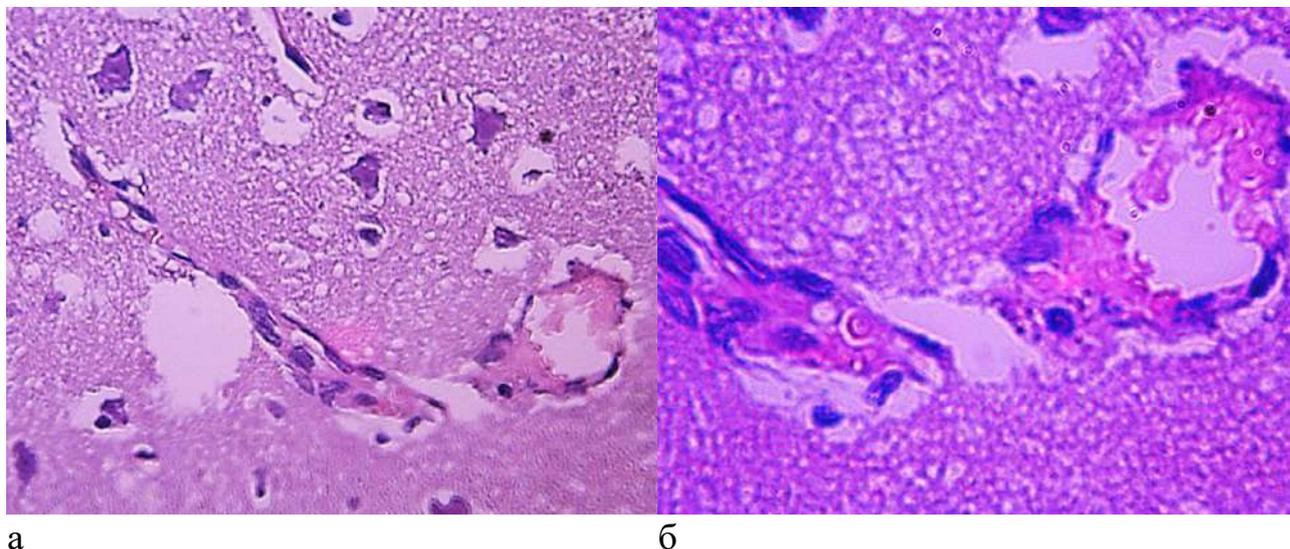
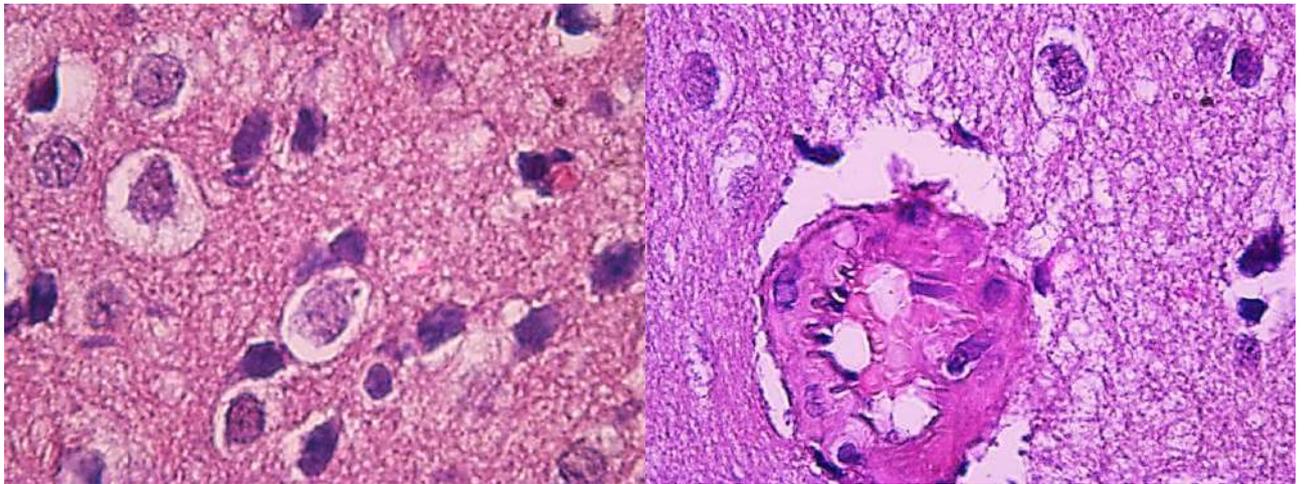


Рисунок 39 – Контрольная группа (Группа 1). Периваскулярный отек, капилляроспазмы, эритростазы, сладж-синдром (а, б). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.: а – X 200; б – X 400.

При 400-кратном увеличении микроскопа в этой же серии опыта четко прослеживается перицеллюлярный отек и дистрофические изменения нейрональных клеток с потерей отростков, границы клеток становятся нечеткими, цитоплазма клеток мелкоглыбчатого характера, ядра в ряде нейроцитов в состоянии некробиотических изменений в виде некробиоза и кариолизиса, в них выявлялись мелкие ядрышки. Среди нейрональных клеток прослеживаются «клетки-тени» с дисхроматизацией, выраженным перицеллюлярным отеком, с широкой зоной энцефаломалации и формированием кривлюр, вокруг которых отмечается активная глиальная реакция, представленная на рисунке 40 а. Отмечалось нарушение кровообращения на уровне капилляров, обнаруживались эритроцитарные тромбы, обтурирующие просвет сосуда прослеживающиеся на рисунке 40 б.



а

б

Рисунок 40 – Контрольная группа (Группа 1). Головной мозг: перипеллюлярный отек с зоной энцефаломалиции и формированием кривлюр и глиальная реакция, нейроны теряют отростки, границы их нечеткие, цитоплазма зернистая, ядра в состоянии некробиоза и кариолизиса, «клетки-тени» с дисхроматизацией (а); эритроцитарные тромбы, обтурирующие просвет сосуда (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: X 400.

Убедительные данные, подтверждающие изменения нейрональных клеток были выявлены при гистологическом исследовании ткани головного мозга при 1000-кратном увеличении микроскопа под иммерсионным маслом, демонстрируемые на рисунке 41.

При этом отмечены выраженные дистрофические изменения и деструкция нейрональных клеток, которые характеризовались появлением очагов энцефаломалиции вокруг нейрональных клеток, веществом мозга с участками разряжения с вакуолизацией и глиальной реакцией. Нейроны приобретают причудливые формы, отростки демиелинизированы, здесь же видна картина нейронофагии.

Хорошо прослеживается нарушение кровообращения на уровне сосудов микроциркуляторного русла в виде эритростазов.

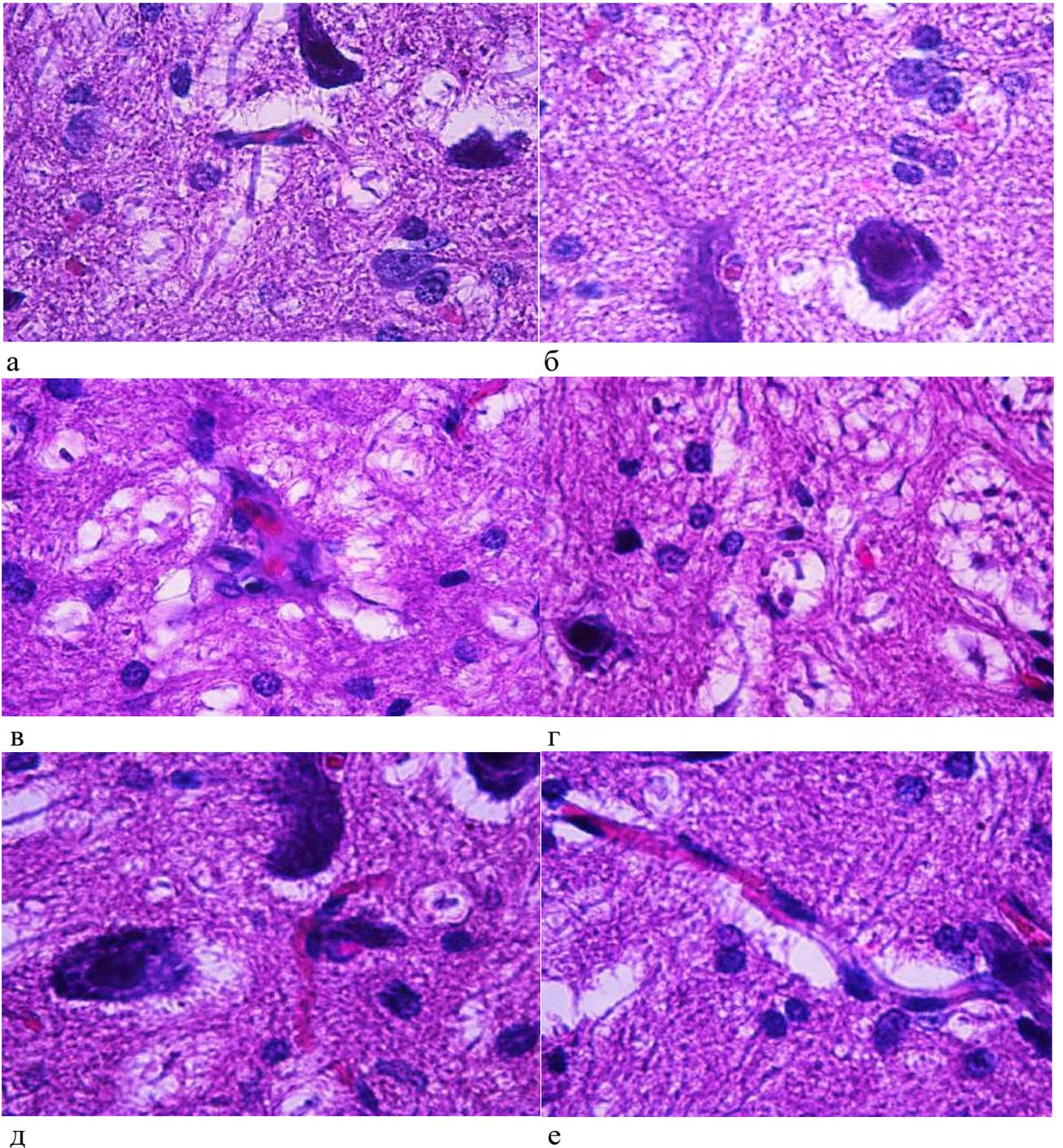


Рисунок 41 – Контрольная группа (Группа 1).

Выраженные дистрофические изменения и деструкция нейрональных клеток, очаги энцефаломалиции с вакуолизацией и глиальной реакцией, в капиллярах множественные эритроцитазы (а, б, в, г, д, е). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.: X1000. Иммерсионное масло.

Следует отметить, что в разных участках головного мозга на серийных срезах отмечался выраженный периваскулярный отек с формированием кривлюр, капилляры были резко спазмированы, просвет в них был деформирован, приобретая фестончатый просвет, а также наблюдался ишемические некробиотические повреждения нейроцитов. В данной группе

эксперимента обращает внимание паретическое расширение и выраженное полнокровие сосудов мягкой мозговой оболочки, межпаутинного пространства и сосудистых сплетений, также выявлены очаговые диапедезные кровоизлияния в ткани вещества головного мозга и мозжечка, отмечаемые на серии снимков, представленных на рисунке 42.

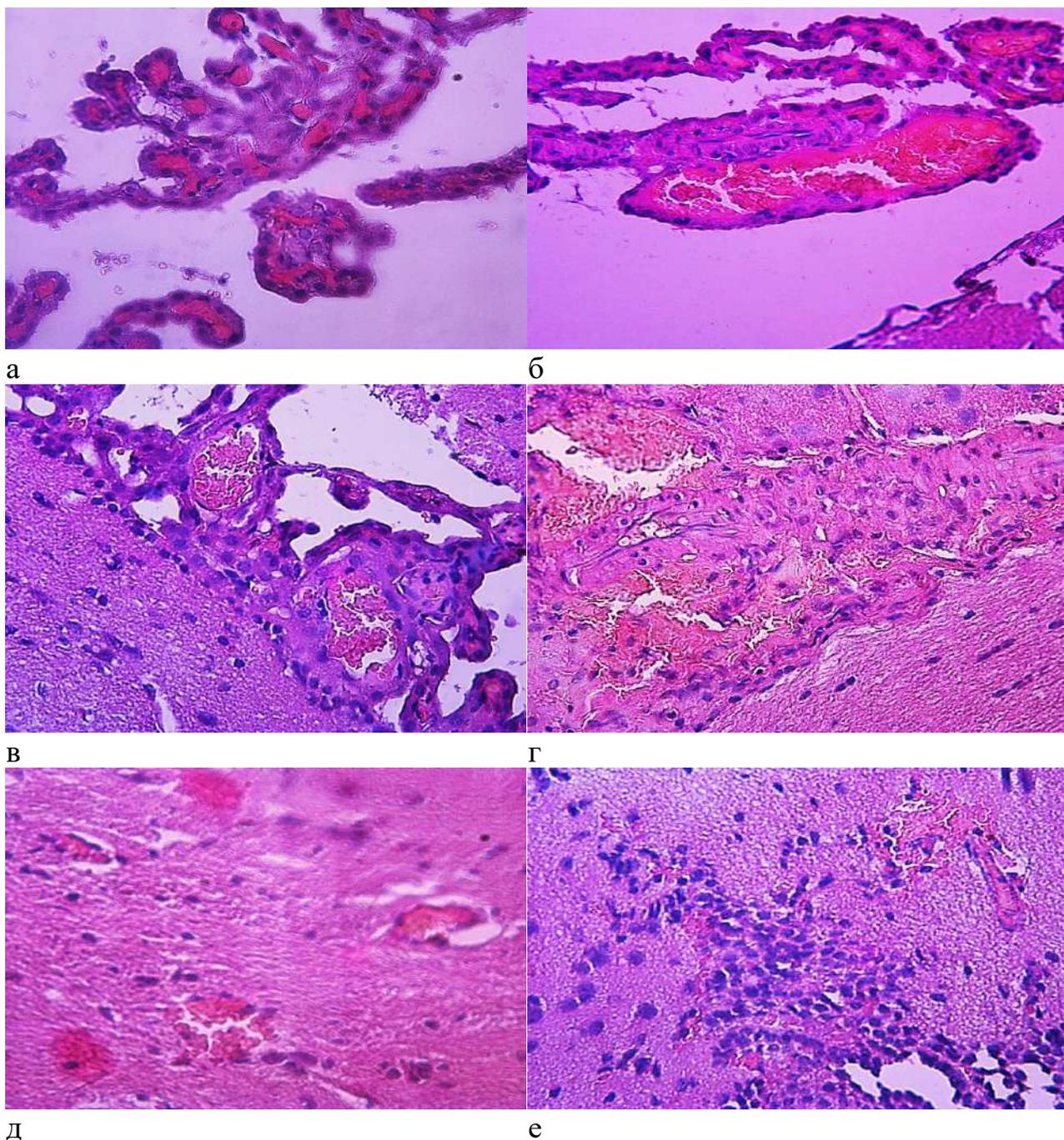


Рисунок 42 – Контрольная группа (Группа 1). Полнокровие сосудов мягкой мозговой оболочки, межпаутинного пространства и сосудистых сплетений (а, б, в); очаги диапедезных кровоизлияний и очаги глиоза в зонах ишемии (г, д, е). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.: X 200.

В ткани мозжечка общая гистоструктура сохранена, но также наблюдается перичеллюлярный отек и выраженная глиальная реакция зоны грушевидных клеток как видно на рисунке 43.

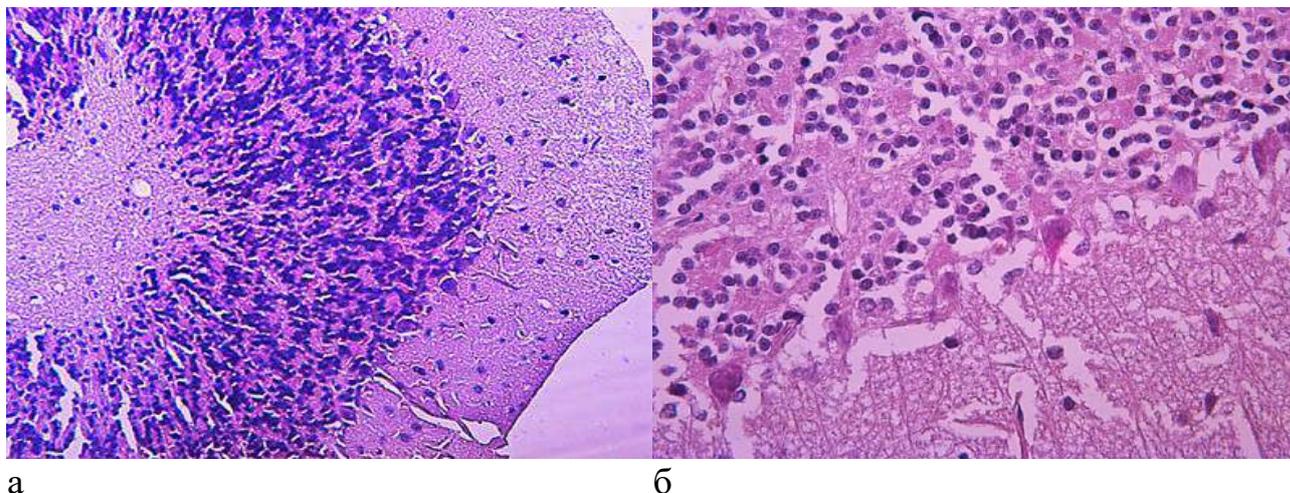


Рисунок 43 – Контрольная группа (Группа 1). Мозжечок: перичеллюлярный отек и глиоз зоны грушевидных клеток. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.: а – X 100; б – X 200.

Морфологическая характеристика структурного состояния головного мозга при моделировании «Хронического непредсказуемого умеренного стресса» в эксперименте.

При создании модели ХНУС (1 серии эксперимента, 2 группа) были соблюдены все критерии воспроизведения в эксперименте клинической картины хронического непредсказуемого умеренного стресса и соблюдены все принципы проведения опыта, животные выводились из эксперимента на 22 сутки с забором материала для последующего гистологического исследования.

При обзорном исследовании ткани головного мозга животных, в данной серии эксперимента было отмечена однотипная картина, представленная на рисунке 44, проявляющаяся развитием выраженной глиальной реакции, обнаружением зон диапедезных или очаговых периваскулярных кровоизлияний в ткань головного мозга. Также была выявлена картина выраженного перичеллюлярного отека.

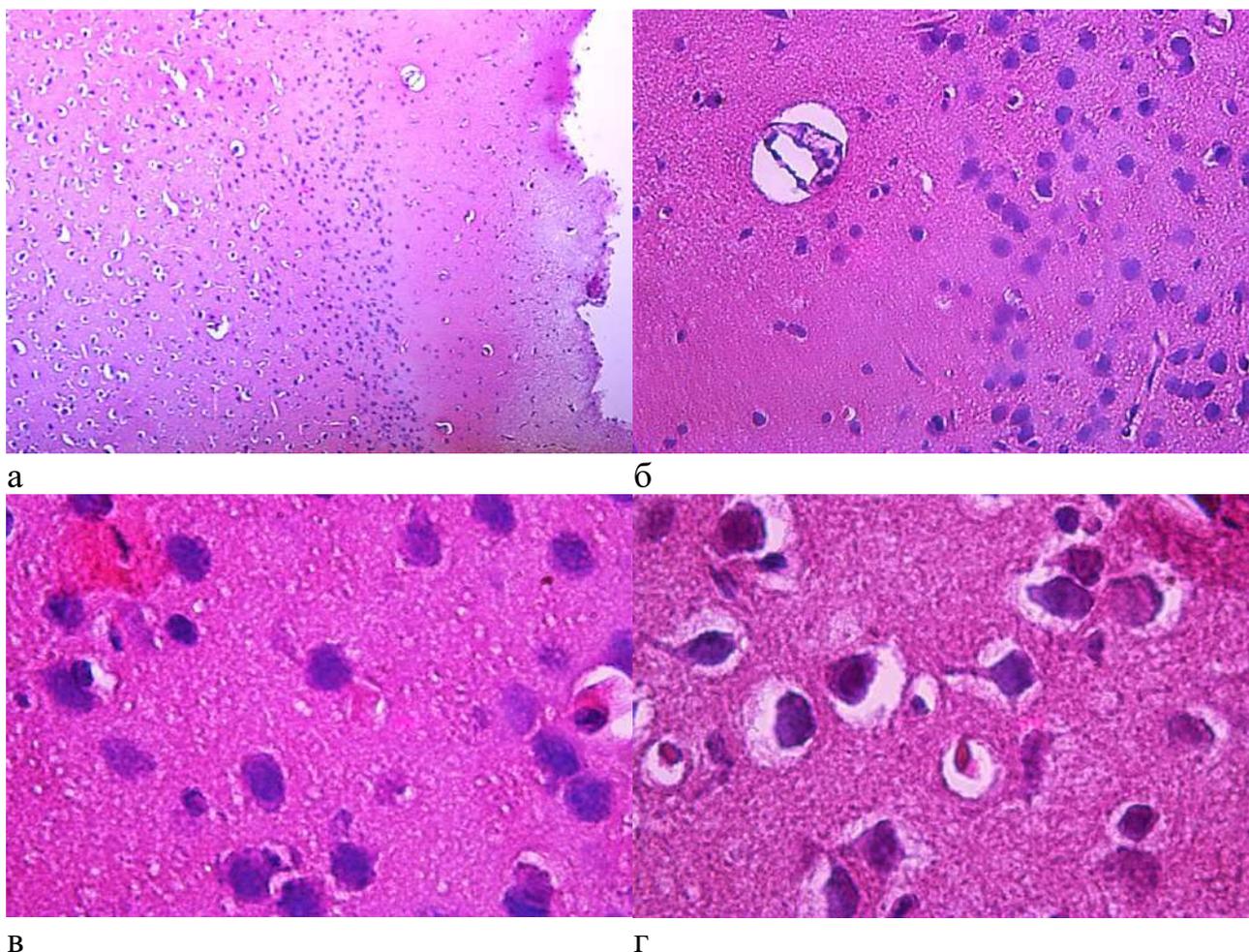


Рисунок 44 – Группа ХНУС (Группа 2). Головной мозг: выраженный глиоз зон ишемии, перичеллюлярный отек, периваскулярные кровоизлияния, дистрофические изменения нейроцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: а – X 100; б – X 200; в, г – X 400.

При гистологическом исследовании ткани головного мозга при 400-кратном увеличении микроскопа, в отличие от контрольной группы, мы наблюдали обширные субарахноидально-паренхиматозные кровоизлияния, как в мягкой мозговой оболочке, так и в веществе головного мозга четко выраженные на рисунке 45 а, б, наблюдалось полнокровие сосудов и эритроцитарные тромбы отмечаемые на рисунке 45 в, г, что было выявлено в 80% наблюдений. При микроскопии были выявлены значительные деструктивные ишемические повреждения вещества головного мозга, что носило системный характер и проявлялось очагами энцефаломалиции, порэнцефалии и выраженным разрежением ткани головного мозга, что придавало сетчатое строение с хаотическим расположением волокнистых структур. Характерным было обнаружение и деструкции нейрональных клеток, образование «клеток-теней» без четких контуров и с кариолизисом, вокруг которых формировалась выраженная глиальная реакция, отмеченная на рисунке 45 д, е.

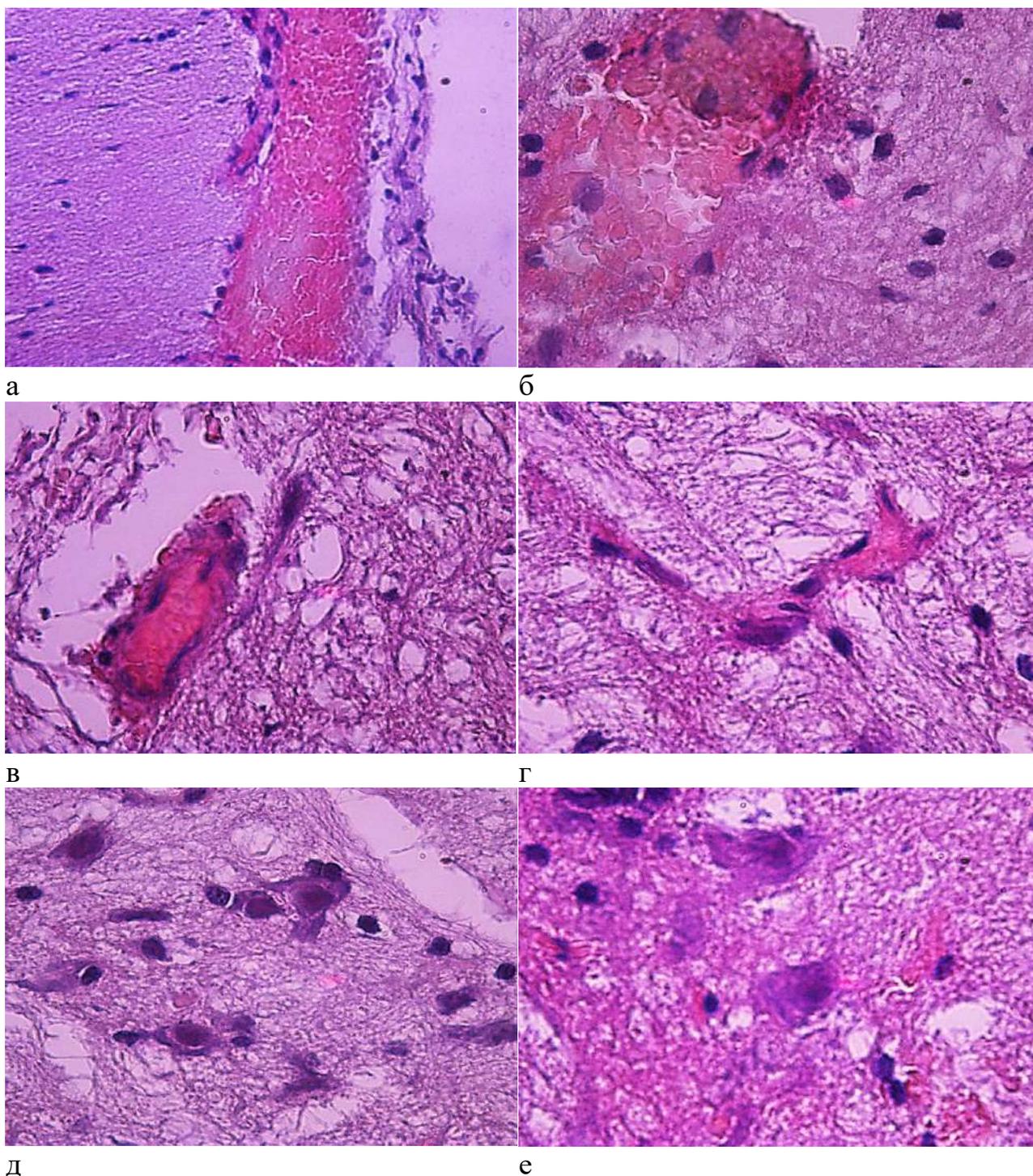


Рисунок 45 – Группа ХНУС (Группа 2). Субарахноидально-паренхиматозные кровоизлияния (а, б); полнокровие сосудов, эритроцитарные тромбы (в, г); разрежение ткани головного мозга, очаги порэнцефалии, деструкция нейрональных клеток, образование «клеток-теней», вокруг глиальная реакция (д, е). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.: X 400.

В ряде наблюдений в данной группе эксперимента мы отмечали значительные изменения периваскулярных зон с очагами кровоизлияний и диапедезом эритроцитов, вокруг отмечался распространённый отек и широкая зона энцефаломалации отмеченная на рисунке 46 а, б.

Наиболее убедительна картина деструктивных изменений ткани головного мозга при 1000-кратном увеличении микроскопа с использованием иммерсионного масла на рисунке 46 в, г, где четко просматриваются тяжелые структурные повреждения вещества головного мозга, что характеризовалось развитием выраженного периваскулярного отека с обширными зонами разрежения и энцефаломалации вещества головного мозга, очагами нейронафагии и глиоза.

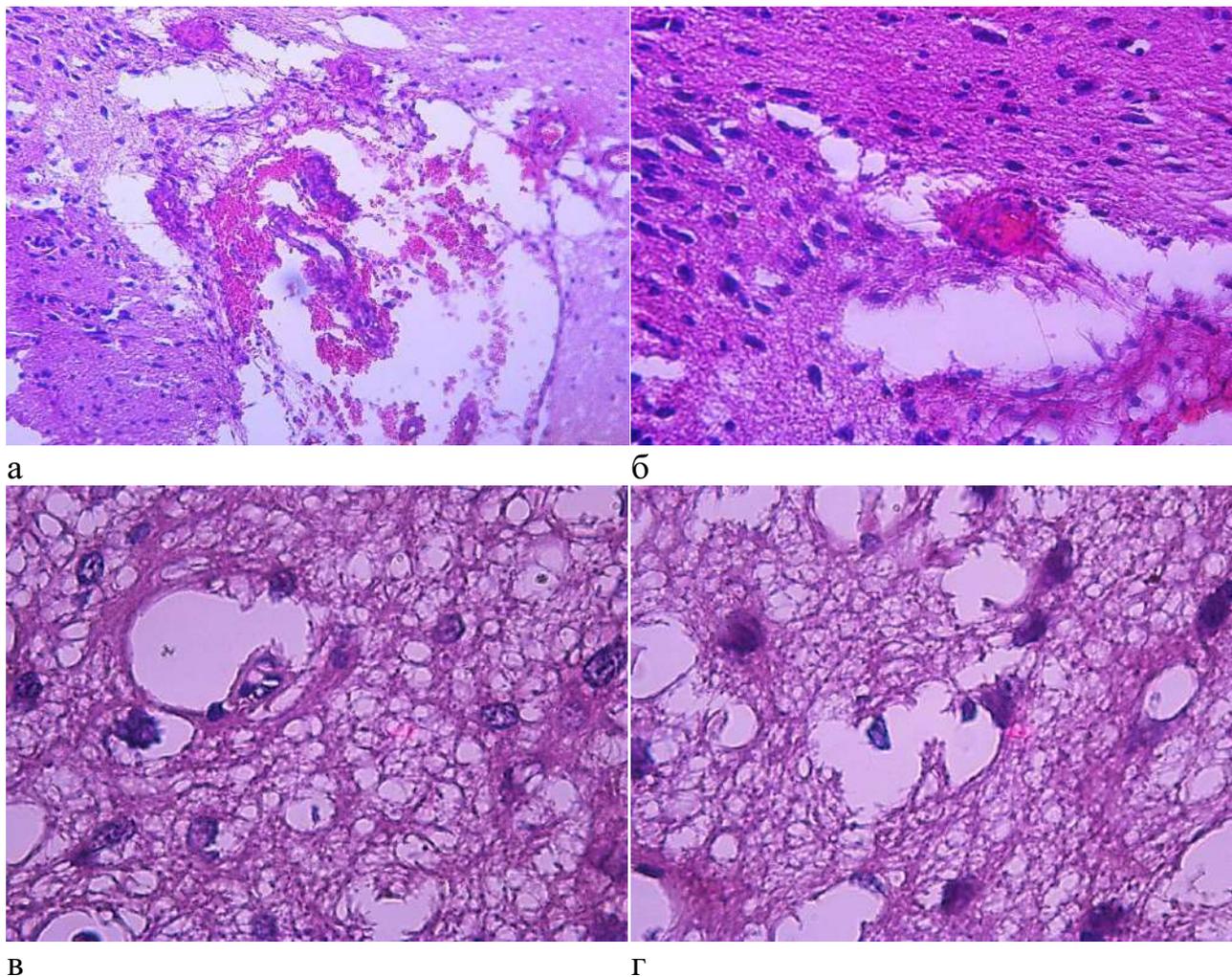


Рисунок 46 – Группа ХНУС (Группа 2). Головной мозг: периваскулярный отек с периваскулярными диапедезными кровоизлияниями (а, б); выраженный периваскулярный отек с обширными зонами разрежения и энцефаломалации вещества головного мозга, очаги нейронафагии и глиоза. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: а, б – X 200. Ув.: в, г – X 1000. Иммерсионное масло.

Таким образом, не смотря на различные условия проведения эксперимента в двух группах патоморфологические изменения отмечаются как в группе 1, так и в группе 2. Основываясь на ранее полученных данных активности пуринового окисления в группе 1, характеризующегося системным характером и способностью пуриновых оснований проникать через гематоэнцефалический барьер, в группе 1 отмечаются характерная нейродегенерация с признаками

глиоза, являющегося защитным ограничительным процессом. Однако, необходимо отметить, что отмеченные ранее в работе процессы оксидативного стресса приводят к развитию в головном мозге нарушений кровообращения с полнокровием сосудов, отеком и макрофагальной инфильтрацией мягкой мозговой оболочки, к фибриноидным изменениям стенок артериол, перичеллюлярного отека и умеренной рассеянной глиальной реакцией с капилляростазом.

Отмечаются признаки нарушения кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла, с развитием периваскулярного отека и зоной энцефаломалиции, спазмом капилляров и сладж-синдромом эритроцитов, дистрофическими изменениями нейрональных клеток с потерей отростков, нечеткостью границ клеток, мелкоглыбчатостью цитоплазмы клеток, некробиоза и кариолизиса, появлением «клеток-теней» с дисхроматизацией, выраженным перичеллюлярным отеком с широкой зоной энцефаломалиции и формированием криблур, вокруг которых отмечается активная глиальная реакция. При максимальном увеличении характер изменений более четко демонстрирует дистрофически-некробиотические изменения с энцефаломалицией, участками разрежения и вакуолизацией. Отмечается деформация нейронов, демиелинизация их отростков и нейронофагия. Обращает на себя внимание выраженное вовлечение кровеносных сосудов различного калибра со спазмом капилляров и паретическим расширением сосудов мозговых оболочек, с диапедезными кровоизлияниями.

При анализе гистологического материала группы 2 отмечаются более выраженные изменения характерные однотипностью во всех наблюдениях с выраженной глиальной реакцией зонами диапедезных или очаговых кровоизлияний в ткань головного мозга с выраженным перичеллюлярным отеком. Характерным для образцов группы 2 является обнаружение обширных субарахноидально-паренхиматозных кровоизлияний в мягкой мозговой оболочке и веществе головного мозга, полнокровие сосудов, и эритроцитарные тромбы, сопровождающиеся значительными деструктивными ишемическими повреждениями вещества головного мозга системного характера и очагами энцефаломалиции, порэнцефалии и выраженным разряжением ткани головного мозга, с хаотическим расположением волокнистых структур, деструкцией нейрональных клеток, образованием «клеток-теней» без четких контуров и кариолизисом, с выраженной глиальной реакцией.

При максимальном увеличении выявлялись тяжелые структурные поражения ткани мозга с энцефаломалицией, нейронофагией и обширными зонами разрежения вещества головного мозга.

Таким образом ХНУС в эксперименте демонстрирует тяжелые структурные поражения головного мозга с сопутствующими нарушениями функций за счет аксональных и нейрональных повреждений. При этом стоит ожидать длительный период восстановления за счет вовлечения в процесс и глиальных структур головного мозга, являющимися субстратом нейрогенеза.

3.2 Сравнительная оценка эффекта терапевтического воздействия при стресс-индуцированных расстройствах у крыс в эксперименте

3.2.1 Анализ результатов оценки в поведенческих тестах у крыс

Во всех исследованиях – поведенческих и биохимических было проведено сравнение показателей групп 3 (использование плацебо), 4 (использование гармина гидрохлорида) , 5 (использование amitriptilina) после терапии с показателями животных до разделения их на группы до начала эксперимента и после формирования модели ХНУС. Анализ проводился по медиане и по результатам множественных сравнений с использованием Н Критерия Краскела Уоллиса для уровня значимости $\alpha=0,05$.

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»

В тесте проведен анализ всех показателей с графическим представлением наиболее информативных – ДПСР, представленный на рисунке 47 а, ДПТР на рисунке 47б и ДПЦ на рисунке 48.



Рисунок 47 – Результаты исследования ДПСР (а) и ДПТР (б) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Как представлено на рисунке 47 а, исходный показатель ДПСР равный 16 на фоне ХНУС снижается до отметки «0» и после терапии в группе 3 увеличивается на 50 %, не достигая исходного уровня на 50 %, в группе 4 достигает исходного уровня и в группе 5 не достигает исходного уровня на 37,5%. Во всех группах терапии показатель ДПСР возрастает по сравнению с показателем при ХНУС. Максимально выраженный результат терапии отмечается в группе 4, где показатель достигает исходного уровня.

Результаты исследования ДПТР представлены на рисунке 47 б. Возрастающий на фоне ХНУС на 17,7% показатель после терапии ни в одной группе не снижается до исходного уровня и остается выше в 3 группе на 18,1%, в 4 группе на 9,9%, в 5 группе на 14%. При этом относительно показателей ХНУС отмечается снижение в группе 4 на 6,6%, в группе 5 на 3,1%, однако в группе 3 за период терапии отмечается увеличение на 0,3%, как показано на рисунке 47 б. Таким образом ни один из видов терапии не способствует достижению исходных

показателей ДПТР, но максимальную эффективность терапии можно отметить в 4 группе.

Лечение в группе 5 демонстрирует терапевтическую активность относительно ХНУС, превосходит результаты терапии 3 группы по ДПСР, но при этом не позволяет достичь исходных показателей ДПСР и ДПТР.

Множественные сравнения (р-уровни) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии были рассчитаны с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса для уровня значимости $\alpha=0,05$. Результаты исследования показателей представлены в таблице 23 и 24

В таблице 23 представлены результаты множественных сравнений, согласно которым показатели ДПСР до эксперимента статистически значимо ниже показателей группы 3 ($p=0,036$), при этом более высокий показатель в группе 4, чем в группе 3 ($p=0,030$). После формирования модели ХНУС значимые различия отмечаются в более низких показателях группы ХНУС, чем в группе 4 ($p=0,000$) и между группами 3 и 4 ($p=0,047$), где показатели выше в 4 группе. ДПТР до начала эксперимента статистически значимо ниже всех групп терапии – группы 3 ($p=0,000$), группы 4 $p=0,005$, группы 5 ($p=0,000$). После формирования модели ХНУС степень значимости достоверности отличий повышается между группой ХНУС и группой 4 ($p=0,001$), в других группах достоверных отличий с группой ХНУС не выявлено. Между группой 4 и 3 выявляется достоверное снижение показателя в группе 3 ($p=0,008$).

Таблица 23 – Множественные сравнения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 12,12 p = 0,007*				
ДПСР	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 8 (0; 12)	0,030*	1,000	0,036*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,030*	Me (Q25; Q75) 16 (14; 20)	0,201	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	0,201	Me (Q25; Q75) 10 (7; 12)	0,330
до начала эксперимента	0,036*	1,000	0,330	Me (Q25; Q75) 16 (9; 25)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 26,93 p = 0,000*				
ДПСР	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 8 (0; 12)	0,047*	1,000	0,712
группа 4, гармина гидрохлорид	0,047*	Me (Q25; Q75) 16 (14; 20)	0,397	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	0,397	Me (Q25; Q75) 10 (7; 12)	0,062

Продолжение таблицы 23

1	2	3	4	5
ХНУС	0,712	0,000*	0,062	Me (Q25; Q75) 0 (0; 8)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 44,47 p = 0,000*				
ДПТР	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 287 (282; 289)	0,324	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,324	Me (Q25; Q75) 267 (266; 276)	1,000	0,005*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 277 (272; 287)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,005*	0,000*	Me (Q25; Q75) 243 (206; 259)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 17,71 p = 0,001*				
ДПТР	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 287 (282; 289)	0,008*	0,553	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	0,008*	Me (Q25; Q75) 267 (266; 276)	0,756	0,001*
группа 5, амитриптилин	0,553	0,756	Me (Q25; Q75) 277 (272; 287)	0,289
ХНУС	1,000	0,001*	0,289	Me (Q25; Q75) 286 (280; 294)
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$				

Результат множественных сравнений ДПЦ представлен в таблице 24.

На основании данных множественных сравнений, представленных в таблице 24, снижение показателей 3 группы достоверно по сравнению с показателями до начала эксперимента ($p=0,001$) и в случае сравнения результатов терапии с показателями ХНУС статистической достоверности не выявляется.

Таблица 24 – Множественные сравнения ДПЦ в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии

H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 17,25 p = 0,001*				
ДПЦ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 7 (4; 11)	0,546	1,000	0,001*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,546	Me (Q25; Q75) 13 (9; 16)	1,000	0,458
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 12 (9; 14)	0,103

Продолжение таблицы 24

1	2	3	4	5
до начала эксперимента	0,001*	0,458	0,103	Ме (Q25; Q75) 51 (13; 67)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 4,672 p = 0,197				
ДПЦ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Ме (Q25; Q75) 7 (4; 11)	0,214	0,856	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	0,214	Ме (Q25; Q75) 13 (9; 16)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	0,856	1,000	Ме (Q25; Q75) 12 (9; 14)	1,000
ХНУС	1,000	1,000	1,000	Ме (Q25; Q75) 12 (4; 17)
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$				

Показатели ДПЦ, представленные на рисунке 48, после снижения на фоне ХНУС на 76,5% на фоне терапии не достигают исходного уровня и остаются ниже его в 3 группе на 86,3% от исходного уровня и продолжая снижаться от показателей ХНУС на 41,7%, в 4 группе на 74,5%, возрастая на фоне терапии от уровня ХНУС на 8,3%, в 5 группе ниже исходного уровня на 76,5% и достигая уровня показателей ХНУС.

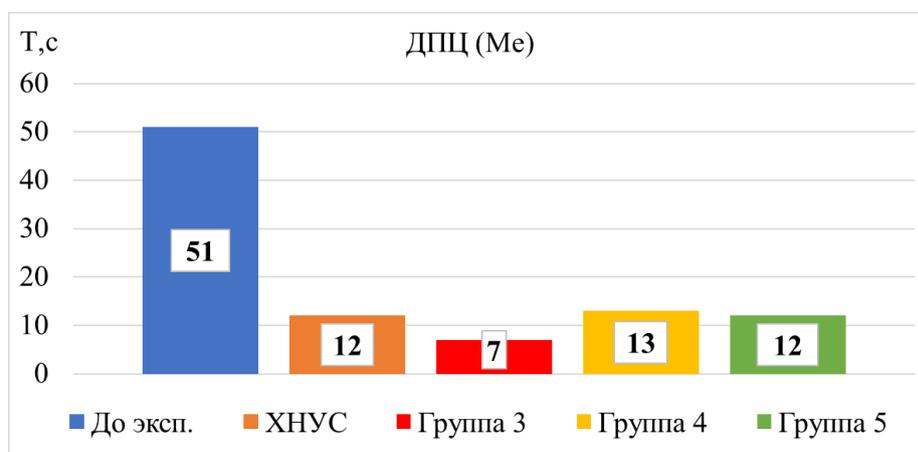


Рисунок 48 – Результаты исследования ДПЦ в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Основываясь на имеющихся данных, наблюдается отсутствие значимого эффекта терапии и продолжающееся снижение показателей в группе 3. Ни один из методов терапии не позволил в установленные сроки достичь исходных показателей, что может свидетельствовать о сохраняющемся тревожном паттерне у животных, и нарастании его в группе 3. При этом в группе 4 можно предположить тенденцию к умеренной эффективности терапии.

Суммируя показатели изменений на фоне терапии ДПСР, ДПТР и ДПЦ можно говорить о максимальных поведенческих изменениях у животных 4 группы под воздействием терапии.

Сравнение показателей менее значимых для проведения теста множественные сравнения, согласно таблице 25, показывают появление значимых отличий до эксперимента и после формирования модели ХНУС.

При сравнении КПСР до эксперимента показатель значимо выше, чем в группе 3 ($p=0,022$), после формирования модели ХНУС значение показателя снижается достоверно ниже группы 4 ($p=0,010$) и группы 5 ($p=0,046$). КПТР в свою очередь до начала эксперимента выше, чем в группе 3 ($p=0,001$), группе 4 ($p=0,037$), группе 5 ($p=0,004$), что после эксперимента во всех группах теряет статистическую значимость и равно либо приближено к показателям ХНУС.

Множественные сравнения стоек и уриаций не показывают статистически значимых отличий между группами во всех наблюдениях.

Показатели свешиваний до эксперимента выше, чем в группах терапии 3 ($p=0,000$) и 5 ($p=0,001$), сравнение с моделью ХНУС демонстрирует более высокие показатели в группе 4 ($p=0,020$) и выше, чем в группе 3 ($p=0,002$).

Количество дефекаций до эксперимента не показывает значимых отличий и превышает показатель в группе 3 в сравнении с группой ХНУС ($p=0,018$).

Основываясь на полученных дополнительных множественных сравнениях в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в таблице 25 подтверждается наличие поведенческих изменений у животных как под влиянием ХНУС, так и под воздействием терапии.

При этом группа 4 показывает более значимые изменения поведенческих реакций в направлении их стабилизации, что вероятно обусловлено прямым действием гармина гидрохлорида, как вещества из группы стимулирующих и галлюциногенных. Таким образом непосредственное влияние терапии в 4 группе может быть обусловлено его быстрым психоактивным эффектом.

Таблица 25 – Множественные сравнения КПСР, КПТР, стоек, свешиваний, уриаций и дефекаций в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии

H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =15,32 p =0,002*				
КПСР	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	1,000	1,000	0,022*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	1,000	0,368
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	0,160
до начала эксперимента	0,022*	0,368	0,160	Me (Q25; Q75) 2 (1; 2)

Продолжение таблицы 25

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 19,39 p = 0,000*				
КПСР	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	1,000	1,000	0,507
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	1,000	0,010*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	0,046*
ХНУС	0,507	0,010*	0,046*	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =27,49 p =0,000*				
КПТР	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	1,000	1,000	0,001*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)	1,000	0,037*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	0,004*
до начала эксперимента	0,001*	0,037*	0,004*	Me (Q25; Q75) 4 (2; 5)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 11,59 p = 0,009*				
КПТР	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	1,000	1,000	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)	1,000	0,949
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	1,000
ХНУС	1,000	0,949	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 5,274 p = 0,153				
Стойки	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0 (0; 0)	0,866	1,000	0,413
группа 4, гармина гидрохлорид	0,866	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)	1,000
до начала эксперимента	0,413	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 5,481 p = 0,140				
Стойки	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0 (0; 0)	0,785	1,000	1,000

Продолжение таблицы 25

1	2	3	4	5
группа 4, гармина гидрохлорид	0,785	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	1,000	0,793
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)	1,000
ХНУС	1,000	0,793	1,000	Me (Q25; Q75) 0 (0; 0)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 31,21 p = 0,000*				
Свешивания	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0 (0; 0)	0,171	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,171	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)	0,866	0,240
группа 5, амитриптилин	1,000	0,866	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)	0,001*
до начала эксперимента	0,000*	0,240	0,001*	Me (Q25; Q75) 6 (2; 9)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 17,18 p = 0,001*				
Свешивания	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0 (0; 0)	0,002*	1,000	0,810
группа 4, гармина гидрохлорид	0,002*	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)	0,103	0,020*
группа 5, амитриптилин	1,000	0,103	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)	1,000
ХНУС	0,810	0,020*	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 5,722 p = 0,126				
Уринации	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (0;1)	1,000	1,000	0,304
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	0,624
до начала эксперимента	0,304	1,000	0,624	Me (Q25; Q75) 1 (0; 3)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 4,604 p = 0,203				
Уринации	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (0;1)	1,000	1,000	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 1)	1,000	0,340
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	1,000

Продолжение таблицы 25

1	2	3	4	5
ХНУС	1,000	0,340	1,000	Ме (Q25; Q75) 0 (0; 1)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 4,526 p = 0,210				
Дефекации	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Ме (Q25; Q75) 2 (1; 2)	1,000	1,000	0,353
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Ме (Q25; Q75) 2 (0; 2)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Ме (Q25; Q75) 1 (0; 2)	1,000
до начала эксперимента	0,353	1,000	1,000	Ме (Q25; Q75) 1 (0; 2)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 13,42 p = 0,004*				
Дефекации	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Ме (Q25; Q75) 2 (1; 2)	1,000	1,000	0,018*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Ме (Q25; Q75) 2 (0; 2)	1,000	0,178
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Ме (Q25; Q75) 1 (0; 2)	0,326
ХНУС	0,018*	0,178	0,326	Ме (Q25; Q75) 0 (0; 1)
Примечание – * Статистически значимые различия если p ≤ 0,05				

Тест «Открытое поле»

В тесте проведены и графически представлены КГП на рисунке 49 а и ВДА на рисунке 49 б, как наиболее информативные показатели.

При анализе КГП, после проведения терапии отмечается снижение КГП от исходного уровня в 3 группе на 86,3%, в группе 4 на 74,5% и в группе 5 на 76,5%, не достигая показателей ХНУС в группе 3 на 50%, в группе 5 на 33,3% и лишь в группе 4 показатели возрастают, достигая уровня ХНУС.

Таким образом можно говорить о продолжающемся снижении КГП в 3 и 5 группе и сохранении их в группе 4, несмотря на проводимую терапию, что клинически характеризуется как сохранение тревожно-депрессивного паттерна.

Анализ ВДА, представленный на рисунке 47 б, демонстрирует значимое снижение ВДА после терапии во всех группах терапии с уменьшением относительно исходных показателей на 90,9% и показателей ХНУС на 50%. При этом необходимо учитывать, что снижение ВДА на фоне ХНУС составило 81,8%.

Таким образом ВДА во всех группах не реагировало на терапию, что может свидетельствовать о высокой степени тревожно-депрессивного паттерна, пролонгированного во времени и выявляемого ввиду особенностей проведения теста, где животные в течение теста находятся на открытом пространстве.

Подобное поведение животных, по данным КГП и ВДА может свидетельствовать о поведении «безысходности» и «смирения», в большей степени характерных для депрессивного поведения, но с учетом отсутствия дополнительных раздражителей и стимулов.

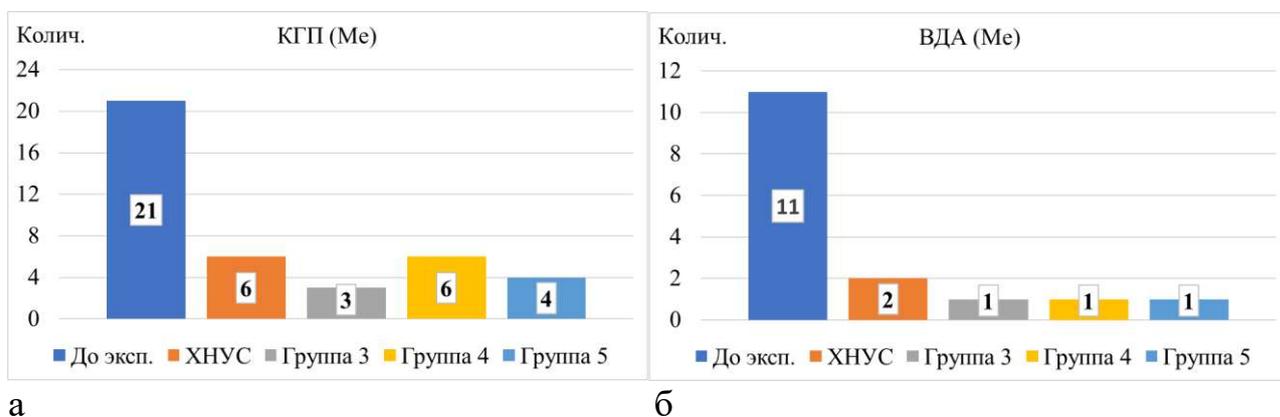


Рисунок 49 – Результаты исследования КГП (а) и ВДА (б) в тесте «Открытое поле» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Множественные сравнения (р-уровни) показателей до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии было рассчитано с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса ($\alpha=0,05$). Результаты исследования представлены в таблицах 26 и 27.

Результаты множественных сравнений КГП и ВДА в таблице 26 подтверждают данные, представленные на рисунке 49, уточняя их. Достоверное снижение КГП отмечено во всех группах терапии, сравнительно с исходными данными и демонстрируют достоверно отличные низкие показатели сравнительно с ХНУС в группе 3 ($p=0,013$). Отмечается достоверно меньшие значения в группе 3 в сравнении с группой 2 ($p=0,006$) и в группе 5 и 4 ($p=0,027$).

Сравнение ВДА с исходными данными достоверно отличается во всех группах ($p=0,000$) и статистически достоверно более низкое значение в группе 5, сравнительно с ХНУС ($p=0,028$)

Таблица 26 – Множественные сравнения показателей КГП, ВДА в тесте «Открытое поле» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 48,09 p = 0,000*				
КГП	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 3 (2; 4)	0,483	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,483	Me (Q25; Q75) 6 (5; 7)	0,835	0,004*

Продолжение таблицы 26

1	2	3	4	5
группа 5, амитриптилин	1,000	0,835	Ме (Q25; Q75) 4 (3;4)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,004*	0,000*	Ме (Q25; Q75) 21 (18; 25)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 18,02 p = 0,000*				
КГП	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Ме (Q25; Q75) 3 (2; 4)	0,006*	1,000	0,013*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,006*	Ме (Q25; Q75) 6 (5; 7)	0,027*	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	0,027*	Ме (Q25; Q75) 4 (3;4)	0,067
ХНУС	0,013*	1,000	0,067	Ме (Q25; Q75) 6 (3; 7)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 45,79 p = 0,000*				
ВДА	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Ме (Q25; Q75) 1 (0; 2)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Ме (Q25; Q75) 1 (1; 2)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Ме (Q25; Q75) 1 (1; 1)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Ме (Q25; Q75) 11 (8; 12)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) = 12,40 p = 0,006*				
ВДА	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Ме (Q25; Q75) 1 (0; 2)	1,000	1,000	0,071
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Ме (Q25; Q75) 1 (1; 2)	1,000	0,972
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Ме (Q25; Q75) 1 (1; 1)	0,028*
ХНУС	0,071	0,972	0,028*	Ме (Q25; Q75) 2 (1; 3)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

Множественные сравнения КД, КУ, и груминга, представленные в таблице 27 не демонстрируют значимых отличий груминга и КД как до эксперимента, так и после формирования ХНУС. Количество уринаций до эксперимента статистически выше, чем в группе 3 (p=0,020) и в группе 4 выше, чем в группе 3 (p=0,036). При сравнении с показателями ХНУС отмечается статистически значимое снижение относительно группы 4 (p=0,017) и выявляется более высокий уровень значений в группе 4, сравнительно с группой 3 (p=0,044).

Таблица 27 – Множественные сравнения груминга, КД и КУ в тесте «Открытое поле» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 6,413 p = 0,093				
Груминг	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)	1,000	1,000	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)	0,339	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	0,339	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	0,129
до начала эксперимента	1,000	1,000	0,129	Me (Q25; Q75) 2 (0; 4)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 7,532 p = 0,057				
Груминг	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)	1,000	1,000	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)	0,201	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	0,201	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	0,088
ХНУС	1,000	1,000	0,088	Me (Q25; Q75) 2 (1; 3)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 5,976 p = 0,113				
КД	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	0,171	1,000	0,533
группа 4, гармина гидрохлорид	0,171	Me (Q25; Q75) 2 (1; 3)	0,775	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	0,775	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	1,000
до начала эксперимента	0,533	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 8,151 p = 0,043*				
КД	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	0,174	1,000	0,126
группа 4, гармина гидрохлорид	0,174	Me (Q25; Q75) 2 (1; 3)	0,756	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	0,756	Me (Q25; Q75) 1 (0; 1)	0,789
ХНУС	0,126	1,000	0,789	Me (Q25; Q75) 2 (1; 3)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 12,98 p = 0,005*				
КУ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента

Продолжение таблицы 27

1	2	3	4	5
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)	0,036*	1,000	0,020*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,036*	Me (Q25; Q75) 2 (1; 2)	0,539	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	0,539	Me (Q25; Q75) 1 (0;1)	0,595
до начала эксперимента	0,020*	1,000	0,595	Me (Q25; Q75) 1 (1; 2)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 12,29 p = 0,006*				
КУ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)	0,044*	1,000	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	0,044*	Me (Q25; Q75) 2 (1; 2)	0,615	0,017*
группа 5, амитриптилин	1,000	0,615	Me (Q25; Q75) 1 (0;1)	1,000
ХНУС	1,000	0,017*	1,000	Me (Q25; Q75) 0 (0; 1)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

По нашему мнению, повышение КУ в тесте «Открытое поле» определяется условиями его проведения, когда животное находясь на открытом пространстве, лишено инстинктивной возможности ухода в темное пространство, подвергается активации вегетативной нервной системы на фоне возрастающей тревоги, либо в случае 4 группы может быть расторможено.

Тест «Подвешивание за хвост»

Результаты, полученные нами представлены на рисунке 50. При проведении теста отмечалось увеличение ЛПИ и СИ на фоне ХНУС на 5% и 3,5% соответственно, что является характерным для данного теста.

Анализ ЛПИ в трех группах терапии, отображенный на рисунке 50 а, демонстрируют незначительное снижение показателей как относительно исходных данных, так и показателей ХНУС. Снижение ЛПИ в 3 группе составило 20% относительно исходных данных и 23,8% показателей ХНУС, в 4 группе – 2,5% и 7,1%, в 5 группе – 5% и 9,5% соответственно.

Результаты расчета СИ, согласно рисунку 50 б, демонстрируют снижение СИ во всех группах терапии по ее завершению относительно исходных данных в группе 3 на 7,3%, группе 4 на 4,9%, в группе 5 на 6,6%, тогда как относительно ХНУС снижение показателей составило в группе 3 на 10,4%, группе 4 на 8,1%, в группе 5 на 9,7%. Интересным является тот факт, что животные 3 группы, получающие плацебо имеют наиболее низкие показатели ЛПИ и СИ. Объяснение подобной ситуации может иметь несколько вариантов – высокий уровень тревожности животных 3 группы, вынуждающий животных стремиться

к освобождению из дискомфортного положения, либо более устойчивое состояние животных 4 и 5 групп, получавших терапию и поведение которых является не исключительно чувством «безысходности», а более низким уровнем тревожности под влиянием терапии.

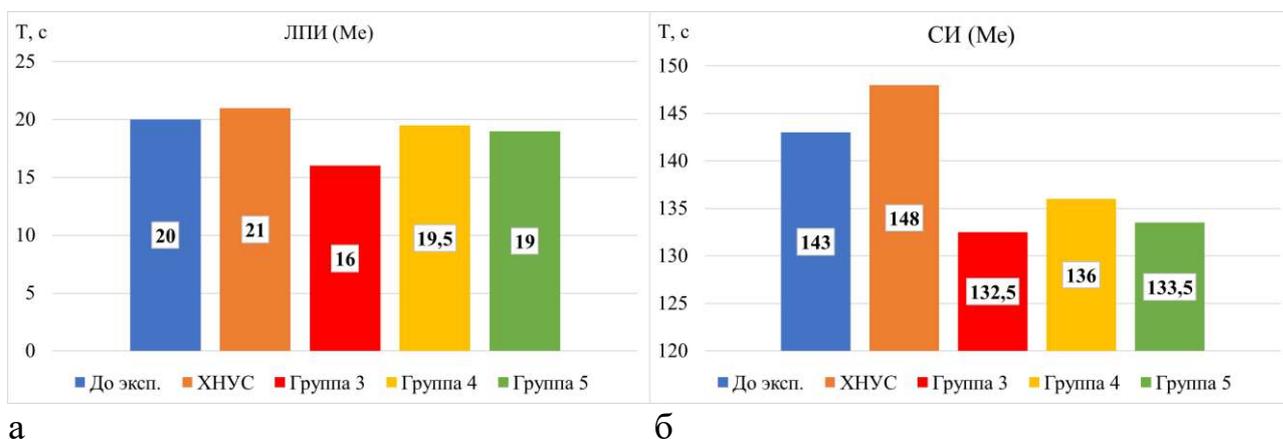


Рисунок 50 – Результаты исследования ЛПИ (а) и СИ (б) в тесте «Подвешивание за хвост» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Множественные сравнения (р-уровни) показателей до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии было рассчитано с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса ($\alpha=0,05$). Результаты исследования представлены в таблице 28.

Сравнение показателей ЛПИ и СИ до эксперимента не демонстрируют статистически значимых отличий, согласно таблице 28. При этом сравнительно с моделью ХНУС показатели ЛПИ статистически выше, чем в группе 3 ($p=0,015$), а СИ ниже в группах 3 ($p=0,000$) и 5 ($p=0,001$), что соответствует ранее выявленным паттернам.

Таблица 28 – Множественные сравнения показателей ЛПИ, СИ в тесте «Подвешивание за хвост» до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 5,288 p = 0,152				
ЛПИ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 16 (13; 19)	0,292	0,888	0,198
группа 4, гармина гидрохлорид	0,292	Me (Q25; Q75) 19,5 (18; 23)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	0,888	1,000	Me (Q25; Q75) 19 (16; 23)	1,000
до начала эксперимента	0,198	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 20 (17; 22)

Продолжение таблицы 28

H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 9,596 p = 0,022				
ЛПИ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 16 (13; 19)	0,364	0,943	0,015*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,364	Me (Q25; Q75) 19,5 (18; 23)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	0,943	1,000	Me (Q25; Q75) 19 (16; 23)	1,000
ХНУС	0,015*	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 21 (19; 24)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 8,576 p = 0,036*				
СИ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 132,5 (128; 137)	1,000	1,000	0,084
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 136 (130; 150)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 133,5 (122; 140)	0,189
до начала эксперимента	0,084	1,000	0,189	Me (Q25; Q75) 143 (136; 159)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 24,57 p = 0,000*				
СИ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 132,5 (128; 137)	0,775	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,775	Me (Q25; Q75) 136 (130; 150)	1,000	0,172
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 133,5 (122; 140)	0,001*
ХНУС	0,000*	0,172	0,001*	Me (Q25; Q75) 148 (145; 151)
Примечание – * Статистически значимые различия если p ≤ 0,05				

Тест «Предпочтение сахарозы»

Исследование в тесте «Предпочтение сахарозы», проводилось еженедельно после формирования модели ХНУС, для достоверности результатов и предотвращения отвыкания животных от данного вида стимуляции. Было учтено, что тест не является стрессогенным, а в большей степени носит диагностический характер изменения в поведении. В период формирования модели тест не проводился, ввиду отсутствия разделения крыс на группы до начала терапии. Таким образом нами получено 5 контрольных точек. Проведено измерение потребляемой жидкости во всех группах в абсолютных и процентных соотношениях. Зафиксированы данные общего потребления жидкости в расчете на одну крысу, как и в первой серии эксперимента. Данные, полученные в ходе выполнения эксперимента представлены в таблице 29.

Таблица 29 – объемы потребления жидкости в группах терапии

	До деления на группы								
Объем жидкости	Вода			Сахароза			Всего		
0 день в мл	40			37			77		
21 день в мл	49			14			63		
	Группа 3			Группа 4			Группа 5		
	Вода	Сахароза	Всего	Вода	Сахароза	Всего	Вода	Сахароза	Всего
28 день в мл	55	12	67	58	11	69	52	13	65
35 день в мл	53	15	68	54	11	65	46	20	66
42 день в мл	50	29	79	43	25	68	43	27	70
	До деления на группы								
	Вода			Сахароза			Всего		
0 день в %	51,95%			48,05%			100,00%		
21 день в %	77,78%			22,22%			100,00%		
	Группа 3			Группа 4			Группа 5		
	Вода	Сахароза	Всего	Вода	Сахароза	Всего	Вода	Сахароза	Всего
28 день в %	82,09%	17,91%	100,00%	84,06%	15,94%	100,00%	80,00%	20,00%	100,00%
35 день в %	77,94%	22,06%	100,00%	83,08%	16,92%	100,00%	69,70%	30,30%	100,00%
42 день в %	63,29%	36,71%	100,00%	63,24%	36,76%	100,00%	61,43%	38,57%	100,00%

Согласно полученным данным, за период формирования модели ХНУС отмечается снижение потребления воды с сахарозой на 62% и общего потребления жидкости на 18%, что говорит об успешности формирования модели и развития у экспериментальных животных ангедонии, как структурного элемента депрессивного паттерна. В дальнейшем на фоне терапии показатели потребления сахарозы к завершению возрастают, однако не достигают исходного уровня ни в одной из групп.

Изменение потребления животными на фоне терапии раствора сахарозы характеризуются увеличением, представленным на рисунке 51. На 28 день эксперимента на фоне терапии отмечается продолжающееся снижение потребления раствора сахарозы во всех трех группах, более выраженное в группе 4 на 21,43%, в группе 3 на 14,29%, в группе 5 на 7,14%. Дальнейший рост потребления раствора сахарозы к 35-му дню отмечается в группе 3 на 7,14% и в группе 5 на 42,68%, в то время как в группе 4 отмечается снижение на 21,43% от уровня показателей 21 дня. Однако по результатам оценки потребления раствора сахарозы выявляется его увеличение во всех группах. Так в группе 3 на 107,14%, в группе 4 на 78,57%, в группе 5 на 92,86% от уровня показателей после формирования модели ХНУС до начала терапии. Таким образом наиболее высокий прирост отмечен в группе 3, а наиболее малый в группе 4.

Таким образом по результатам теста «Предпочтение сахарозы» отмечается выраженный тренд к купированию ангедонических проявлений, что характеризуется повышением показателя предпочтения раствора сахарозы во всех группах терапии к завершению эксперимента на 42 день. Можно

предположить, что при продолжении наблюдения и, возможно, терапии зафиксированные конечные показатели достигнут исходного значения выявленного до начала эксперимента и формирования модели ХНУС.

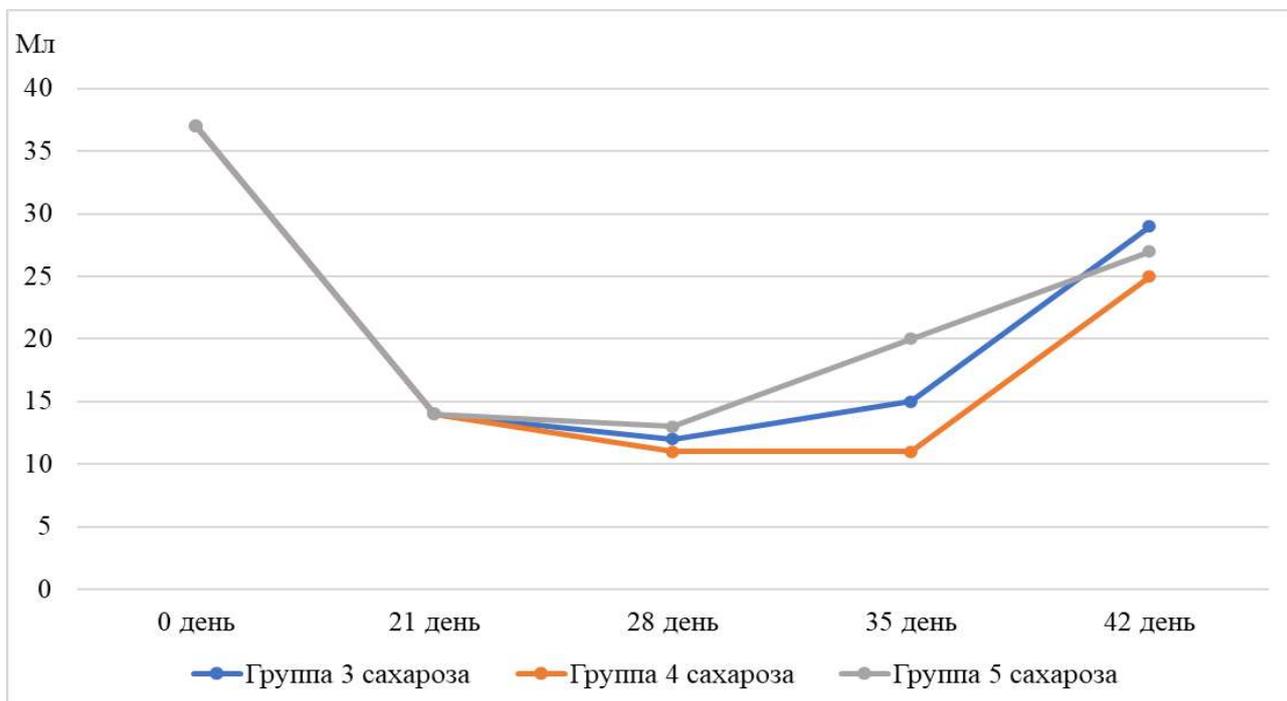


Рисунок 51 – динамика изменения потребления жидкости с сахарозой в группах терапии

Анализ потребления жидкости в группах терапии представлен на рисунке 52. Отражено потребление воды, количество которого происходит на фоне терапии и сравнение с повышающимся потреблением раствора сахарозы. Однако необходимо отметить, что во всех группах в течение формирования модели стресса отмечается общее снижение потребляемой жидкости в расчете на одну крысу на 18%, которое формируется за счет уменьшения потребления сахарозы на 62%, а увеличения потребления воды увеличено на 23 процента. С 21-го дня, когда была сформирована модель ХНУС и начала терапии количество потребляемой воды к 28 дню в группе 3 повысилось на 12,24%, в группе 4 на 18,37%, в группе 5 на 6,12%. В этот же период количество потребляемой сахарозы продолжило снижаться как видно из рисунка 52 и отмечено в описании к рисунку 51. Однако на 28-й день общее потребление жидкости относительно 21-го дня в группе 3 увеличилось на 6,35%, в группе 4 на 10%, в группе 5 на 3%. Учитывая, что симптомами ангедонии является не только снижение предпочтения сахарозы, но и общего количества потребляемой жидкости можно предположить, что с момента прекращения воздействия ХНУС, ангедонические проявления идут на спад, основываясь на увеличении общего потребления жидкости.

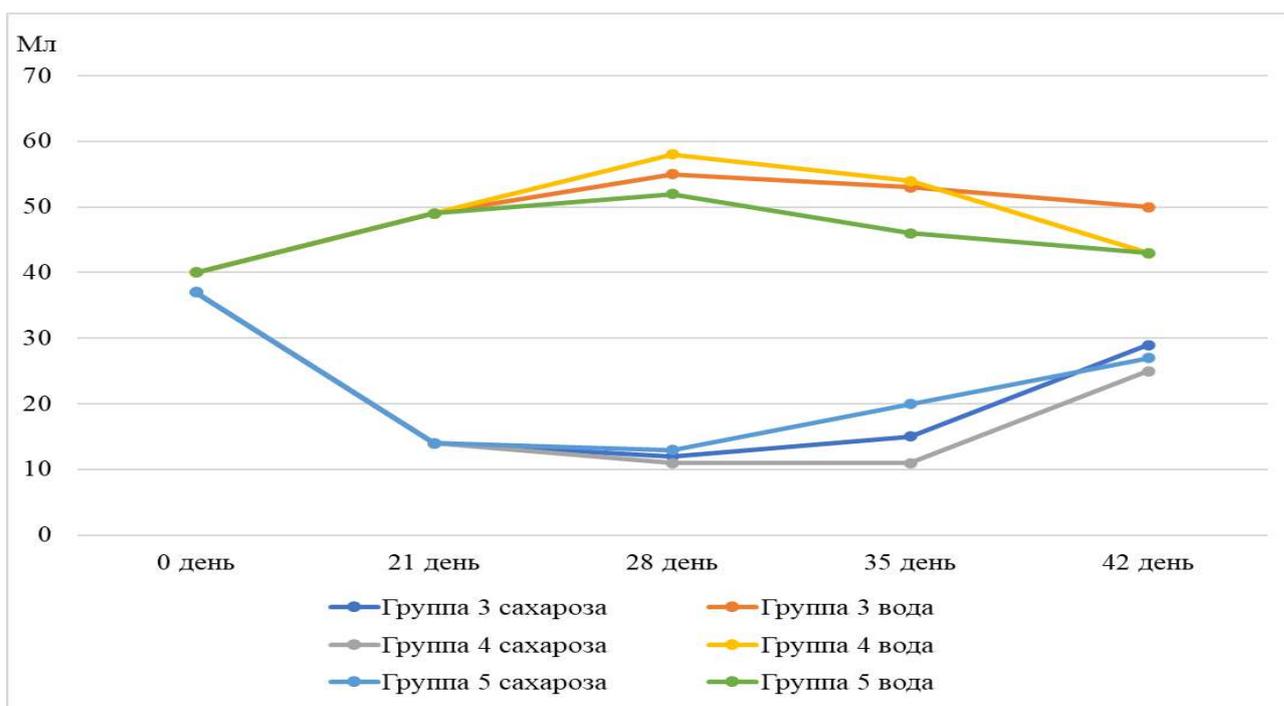


Рисунок 52 – Сравнительные показатели потребления воды и воды с сахарозой в группах терапии

Дальнейший анализ проводился, как и в случае с раствором сахарозы, относительно 21-го дня, когда было завершено стрессовое воздействие. Данные графика показывают, что происходит снижение потребления воды на 35-й день эксперимента только в группе 5 на 6,12%, где в этой же контрольной точке отмечается самый высокий прирост потребления раствора сахарозы (42,86%) и общее увеличение потребления жидкости таким образом в группе 5 увеличивается на 4,76%. В группе 3 увеличение потребления воды составило 8,16%, а общего количества потребляемой жидкости 7,94%, в группе 4 увеличение потребления воды отмечено на 10,2%, а общего количества жидкости на 3,17%.

На 42 день отмечается продолжающееся снижение потребляемого количества воды в 5 группе на 12,24% и увеличение общего потребления жидкости на 11,11%. В то же время отмечается снижение потребления воды и в группе 4 на 12,24%, с увеличением общего количества потребляемой жидкости на 7,94%. Результаты группы 3 показывают увеличение потребления воды на 2,04%, а общего количества жидкости на 25,4%.

Таким образом мы отмечаем различные этапы изменения гедонических трендов в группах терапии. Животные группы 3 максимально увеличивают количество общего потребления жидкости к 35-му и 42-му дням (на 7,94% и 25,4% соответственно), при этом максимальное увеличения потребления раствора сахарозы отмечается к 42-му дню (107,14%).

В группе 4 отмечается наименьший прирост как общего количества потребляемой жидкости (7,94%), так и потребления сахарозы (78,57%) к 42 дню, в то время как на протяжении первых двух недель терапии потребление сахарозы

выло равномерно снижено от 21-го дня (21,43%) и отмечалось лишь увеличение потребления воды (18,37% и 10,2%). Однако на последней неделе отмечается положительная динамика в сторону увеличения потребления раствора сахарозы.

В группе 5 мы видим снижение потребления воды при контроле на 35-й и 42-й дни (6,12% и 12,24% соответственно) со значительным увеличением потребления раствора сахарозы с 35-го дня (42,68%) и на 42-й день (92,86%), за счет которого происходит увеличение общего потребления жидкости к 42-му дню на 11,11%.

На основании представленных данных можно предположить, что наилучшее восстановление гедонических функций отмечено в группах 3 и 5, но отличие 5 группы заключается в снижении потребления воды и тем самым уменьшением общего количества потребляемой жидкости. В группе 4 наблюдается нестандартная замедленность восстановления и необъяснимый резкий скачок к 42-му дню. Однако прирост количества общего потребления жидкости остается самым малым из всех групп терапии. Возможно, что при дальнейшем наблюдении динамика потребления жидкостей в группах и изменения ангедонических проявлений получили бы больше данных.

Анализ терапевтической активности в группах терапии по результатам поведенческих тестов.

Данные показывают, что несмотря на прекращения воздействия в модели ХНУС после завершения терапии в трех группах результаты имеют различную динамику как относительно исходных показателей, так и после формирования модели. Однако на фоне терапии во всех группах отмечается пролонгированный эффект стресс-индуцированного расстройства, который не демонстрирует достижения исходных показателей, а в некоторых случаях и продолжающееся снижение показателей относительно модели ХНУС.

В группе 3 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» по результатам терапии ДПСР сохраняется ниже исходного уровня на 50%, но имеет тенденцию к повышению относительно ХНУС на 50%, ДПТР выше на 18%, ДПЦ ниже на 86,27%, КПСР на 50%, КПТР на 75%, свешиваний на 100%, не имея статистически значимых различий по количеству стоек, уринаций и дефекаций. При этом сохраняется тенденция к снижению ДПЦ, относительно ХНУС на 42% и тенденция к повышению КПТР на 0,35%.

В тесте «Открытое поле» отмечается снижение КПП от исходного уровня на 86,3%, снижение ВДА на 90,9% от исходных показателей и дальнейшим снижением обоих показателей относительно ХНУС на 50%. Груминг снижен на 50%, КУ и КД остается ниже по показателям квартильной дисперсии

В тесте «Подвешивание за хвост ЛПИ демонстрирует снижение показателей относительно исходных данных на 20%, СИ демонстрируют снижение на 7,3%, %, и относительно ХНУС ЛПИ на 23,8%, СИ на 10,5%.

В тесте «Потребление сахарозы» отмечается динамика нарастания потребления как общего количества жидкости, так и сахарозы, сохраняющееся ниже исходного уровня сахарозы на 21,6%, увеличение потребления жидкости на 2,6%, и относительно ХНУС жидкости больше на 25%, сахарозы на 107%

В группе 4 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» по результатам терапии ДПСР достигает исходного уровня, КПСР ниже на 50%, КПТР на 75%, свешиваний на 83%, ДПТР остается выше на 10%, но с тенденцией к снижению относительно ХНУС на 6,6%, ДПЦ ниже на 74,5%, с тенденцией к повышению относительно ХНУС на 8,3%, не имея статистически значимых различий по количеству стоек, уринаций и дефекаций.

В тесте «Открытое поле» отмечается снижение КГП от исходного уровня на 71,4%, но достигает уровня ХНУС. Снижение ВДА на 90,9% от исходных показателей и на 50% ниже показателей ХНУС.

В тесте «Подвешивание за хвост ЛПИ» демонстрирует снижение показателей относительно исходных данных на 2,5%, СИ снижается на 4,9%, и относительно ХНУС ЛПИ на 7%, СИ на 8,1%

В тесте «Потребление сахарозы» отмечается динамика нарастания потребления как общего количества жидкости, так и сахарозы, сохраняющееся ниже исходного уровня жидкости на 11,7%, сахарозы на 32,4%, и относительно ХНУС жидкости больше на 8%, сахарозы на 78%

В группе 5 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» по результатам терапии ДПСР не достигает исходного уровня, но имеет тенденцию к повышению относительно ХНУС на 37,5%, КПСР ниже на 50%, КПТР на 75%, свешиваний на 100%, ДПТР остается выше на 14%, но с тенденцией к снижению относительно ХНУС на 3,15%, ДПЦ ниже на 76,47%, с тенденцией к повышению равное уровню при ХНУС, не имея статистически значимых различий по количеству стоек, уринаций и дефекаций.

В тесте «Открытое поле» отмечается снижение КГП от исходного уровня на 80,95% и ниже ХНУС на 33,33%. Снижение ВДА на 90,9% от исходных показателей и ниже уровня ХНУС на 50%.

В тесте «Подвешивание за хвост ЛПИ» демонстрирует снижение показателей на 5%, СИ на 6,6% и относительно ХНУС ЛПИ на 9,5%, СИ на 9,8%.

В тесте «Потребление сахарозы» отмечается динамика нарастания потребления как общего количества жидкости, так и сахарозы, сохраняющееся ниже исходного уровня жидкости на 9%, сахарозы на 27% и относительно ХНУС жидкости больше на 11%, сахарозы на 93%.

Однако по результатам множественных сравнений эффективность терапии на основании достижения исходных показателей сориентирована по минимальной степени различий исходных показателей и после терапии. Так в тесте «Приподнятого крестообразного лабиринта» наименьшее отличие КПСР в группе 4 ($p=0,368$) и после в группе 5 ($p=0,160$), группе 3 ($p=0,022$), КПТР в группе 4 ($p=0,037$), и после группе 5 ($p=0,004$), группе 3 ($p=0,001$), стоек 4 и 5 ($p=1,000$), группе 3 ($p=0,413$), свешиваний в группе 4 ($p=0,240$), группе 5 ($p=0,001$), группе 3 ($p=0,000$), уринаций в группе 4 ($p=1,000$), группе 5 ($p=0,624$), группе 3 ($p=0,304$), дефекаций в группах 4 и 5 ($p=1,000$), в группе 3 ($p=0,353$).

В тесте «Открытое поле» наименьшее отличие по КГП в группе 4 ($p=0,004$), группах 3 и 5 ($p=0,000$), ВДА во всех группах ($p=0,000$), груминга в группах 3 и 4 ($p=1,000$), группе 5 ($p=0,129$), КД в группах 4 и 5 ($p=1,000$), группе 1 ($p=0,533$), КУ в группе 4 ($p=1,000$), группе 5 ($p=0,595$), группе 1 ($p=0,020$).

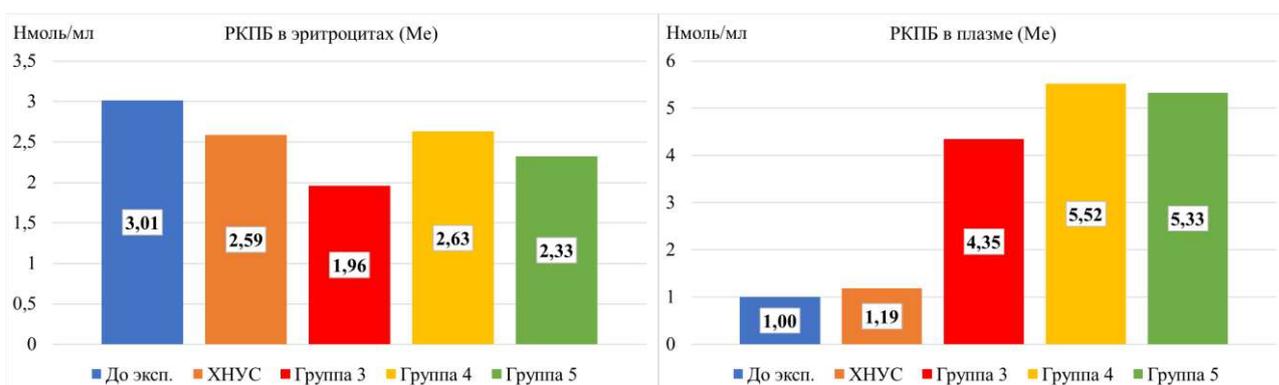
В тесте «Подвешивание за хвост» наименьшее отличие по ЛПИ в группе 4 и 5 ($p=1,000$), группе 3 ($p=0,198$), СИ в группе 4 ($p=1,000$), группе 5 ($p=0,189$), группе 3 ($p=0,084$).

Таким образом в большинстве случаев значения множественных сравнений имеют статистически значимые отличия при $p \leq 0,05$, что говорит о сохраняющихся отличиях, однако по данным р-уровня наилучшие результаты терапии отмечаются в группе 4, где терапия проводилась гармина гидрохлоридом, терапевтическую эффективность показывает amitriptyline в группе 5 и показатели плацебо по результатам поведенческих тестов демонстрируют наиболее низкий уровень достижения исходных показателей.

3.2.2 Оценка изменений показателей окислительного метаболизма в эритроцитах и плазме крови крыс

На рисунке 53 представлены показатели РКПБ в эритроцитах и плазме. Изменения РКПБ в эритроцитах представлены на рисунке 53 а. По завершению формирования модели ХНУС отмечается снижение РКПБ в эритроцитах на 14%. При исследовании изменений РКПБ эритроцитов в трех группах терапии по завершению эксперимента, отмечается их снижение относительно исходных показателей в 3 группе на 34,95%, в группе 4 на 12,71%, в группе 5 на 22,67%. Таким образом ни в одной группе терапии исходные показатели РКПБ в эритроцитах не достигаются. Оценка изменений показателей после терапии относительно ХНУС демонстрирует снижение в 3 группе снижение на 24,3%, увеличение в группе 4 на 1,58%, в группе 5 снижение на 10%.

Динамика уровня РКПБ в плазме представлена на рисунке 53 б. Уровень РКПБ в плазме, при формировании модели ХНУС повышается на 18,13%. На фоне терапии отмечается неуклонное повышение РКПБ в плазме относительно исходных показателей в группе 3 на 333,27%, в группе 4 на 449,8%, группе 5 на 430,88%. Сравнительно с показателями после формирования модели ХНУС увеличение показателей составляет в группе 3 на 266,78%, в группе 4 на 365,43%, группе 5 на 349,41%.



а

б

Рисунок 53 – Результаты исследования РКПБ в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Множественные сравнения (p-уровни) показателей РКПБ, МДА, МГ, МСГ в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии были рассчитаны с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса ($\alpha=0,05$). Результаты исследования представлены в таблицах 30, 31 и 32.

Данные, представленные в таблице 30 подтверждают ранее полученные результаты, и демонстрируют статистически значимые отличия РКПБ в эритроцитах только в случае сравнения групп терапии с показателями ХНУС, где показатель в группе 3 статистически ниже ($p=0,014$). Результаты сравнения показателей РКПБ в плазме демонстрируют значительно более высокий уровень во всех группах терапии, сравнительно с исходным уровнем и после формирования модели ХНУС ($p=0,000$).

Таблица 30 – Множественные сравнения показателей РКПБ, в плазме и эритроцитах до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 3,073 p = 0,381				
РКПБ в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1,961 (1,818; 2,294)	1,000	1,000	0,522
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 2,628 (2,043; 2,823)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 2,325 (2,156; 2,554)	1,000
до начала эксперимента	0,522	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 3,013 (1,688; 5,723)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 10,19 p = 0,017				
РКПБ в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1,961 (1,818; 2,294)	0,171	1,000	0,014*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,171	Me (Q25; Q75) 2,628 (2,043; 2,823)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 2,325 (2,156; 2,554)	0,801
ХНУС	0,014*	1,000	0,801	Me (Q25; Q75) 2,589 (2,346; 2,788)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 44,45 p = 0,000*				
РКПБ в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 4,351 (3,628; 7,532)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 5,519 (3,948; 8,095)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 5,333 (4,329; 5,671)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 1,004 (0,883; 1,143)

Продолжение таблицы 30

H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =44,26 p =0,000*				
РКПБ в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 4,351 (3,628; 7,532)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 5,519 (3,948; 8,095)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 5,333 (4,329; 5,671)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 1,186 (1,048; 1,351)
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$				

Результаты анализа МДА в эритроцитах и плазме представлены на рисунке 54. Согласно проведенному анализу формирование модели ХНУС соответствовало незначительному снижению показателей на 0,67% и после, в группах терапии наблюдалось увеличение МДА в эритроцитах в группе 3 относительно исходных показателей на 69,92% и на 70,89% относительно ХНУС, в группе 4 на 50,66% и на 51,51%, в 5 группе на 51,79% и на 52,65% соответственно. Данная динамика после терапии отражена на рисунке 54 а.

Показатели МДА в плазме при ХНУС снизились на 14,47%. В группах терапии отмечалось увеличение МДА в плазме во всех группах терапии относительно исходных данных на 31,54% в группе 3, на 29,72% в группе 4, на 59,3% в группе 5. Сравнение с показателями ХНУС после терапии показало увеличение уровня МДА в плазме на 53,8% в группе 3, на 51,68% в группе 4, на 86,27% в группе 5, что отражено на рисунке 54 б.

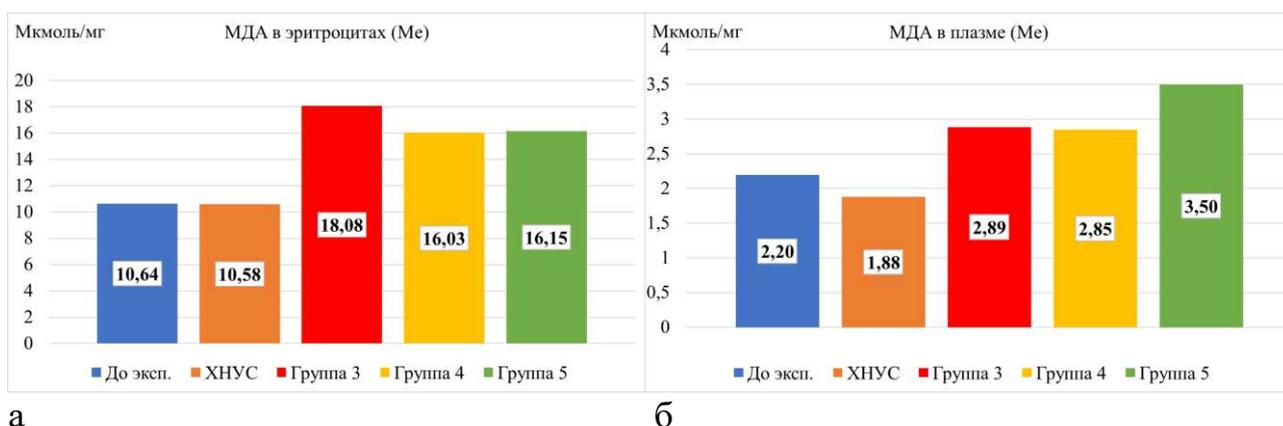


Рисунок 54 – Результаты исследования МДА в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Результаты множественных сравнений МДА в эритроцитах и плазме, представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Множественные сравнения показателей МДА, в плазме и эритроцитах до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) = 21,85 p = 0,000*				
МДА в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 18,08 (14,87; 21,03)	1,000	1,000	0,001*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 16,03 (13,21; 18,59)	1,000	0,025*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 16,15 (15,26; 19,49)	0,012*
до начала эксперимента	0,001*	0,025*	0,012*	Me (Q25; Q75) 10,64 (8,846; 13,08)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 32,04 p = 0,000				
МДА в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 18,08 (14,87; 21,03)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 16,03 (13,21; 18,59)	1,000	0,002*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 16,15 (15,26; 19,49)	0,001*
ХНУС	0,000*	0,002*	0,001*	Me (Q25; Q75) 10,58 (9,615; 11,54)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 32,84 p = 0,000*				
МДА в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 2,886 (2,675; 3,204)	1,000	0,899	0,003*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 2,847 (2,754; 3,019)	0,161	0,073
группа 5, амитриптилин	0,899	0,161	Me (Q25; Q75) 3,496 (3,125; 3,920)	0,000*
до начала эксперимента	0,003*	0,073	0,000*	Me (Q25; Q75) 2,197 (1,879; 2,357)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 38,37 p = 0,000*				
МДА в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 2,886 (2,675; 3,204)	1,000	1,000	0,001*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 2,847 (2,754; 3,019)	0,141	0,033*
группа 5, амитриптилин	1,000	0,141	Me (Q25; Q75) 3,496 (3,125; 3,920)	0,000*
ХНУС	0,001*	0,033*	0,000*	Me (Q25; Q75) 1,879 (1,694; 2,171)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

Результаты множественных сравнений показывают статистически достоверно более высокие уровни МДА в эритроцитах после терапии, сравнительно с исходными показателями: группа 3 ($p=0,001$), группа 4 ($p=0,025$), группа 5 ($p=0,012$). Множественные сравнения с показателями после формирования модели ХНУС достоверно выше – в группе 3 ($p=0,000$), в группе 4 ($p=0,002$), в группе 5 ($p=0,001$).

Множественные сравнения МДА в плазме подтверждают статистически значимые более высокие показатели сравнительно с исходными данными в группе 3 ($p=0,003$) и в группе 5 ($p=0,000$). Более высокие расчетные показатели в группе 4 статистической достоверности не имеют ($p=0,073$). Достоверные показатели сравнительно с данными после формирования модели ХНУС отмечаются в группе 3 ($p=0,001$), группе 4 ($p=0,033$), группе 5 ($p=0,000$). При сравнении показателей достоверных различий между группами ни в одном случае не выявили.

На рисунке 55 а представлена динамика уровня МГ и МСГ на рисунке 55 б по уровню медиан. Показатели МГ в эритроцитах, демонстрируют изначальное снижение уровня при формировании модели ХНУС на 4,35%. После терапии уровень МГ в группе 3 ниже исходного на 4,89%, и ниже ХНУС на 0,57%, в 4 группе ниже исходного на 3,53% и выше ХНУС на 0,85%, В группе 5 уровень МГ выше исходного и ХНУС на 5,98% и 10,80% соответственно. Таким образом необходимо отметить, что на фоне терапии в 3 группе сохраняется незначительная динамика к снижению показателей МГ, в группе 4 незначительный сдвиг в сторону повышения и в группе 5 отмечается наиболее выраженный рост МГ, в том числе относительно исходного уровня.

По данным рисунка 55 б динамика МСГ характеризуется снижением в модели ХНУС на 8,03% и последующим снижением уровня МСГ относительно исходных данных и ХНУС. Так в группе 3 снижение МСГ относительно исходных данных составило 28,86% и ХНУС 22,65%, в группе 4 – 28,16% и 21,89%, в группе 5 – 34,63% и 28,92% соответственно. Таким образом по результатам расчетов во всех группах на фоне терапии отмечается дальнейшее снижение МСГ.

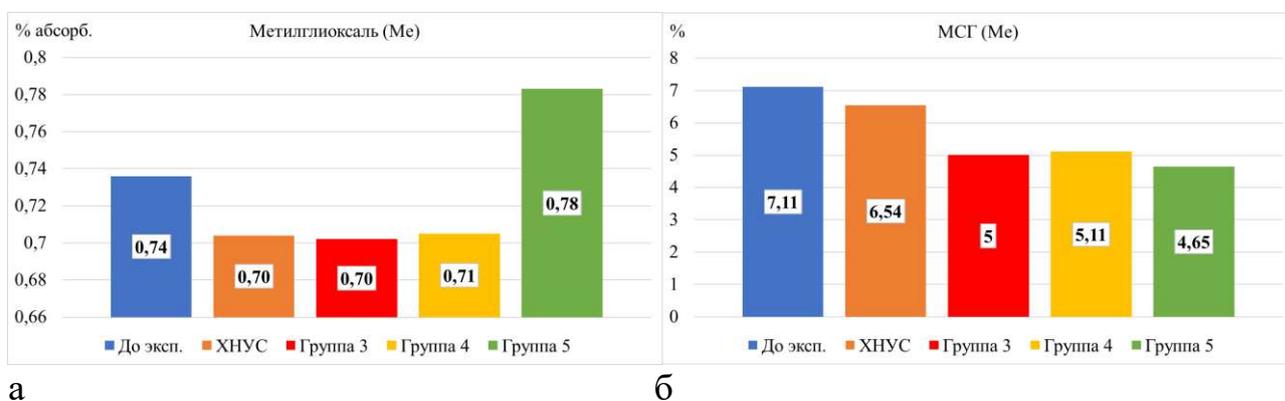


Рисунок 55 – Результаты исследования метилглиоксаля в эритроцитах (а) и мембраносвязанного гемоглобина (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Множественные сравнения МГ и МСГ представлены в таблице 32. По результатам множественных сравнений, представленных в таблице 32, показатели МГ в эритроцитах до начала эксперимента и после формирования модели ХНУС не имеют достоверных статистически значимых отличий от показателей после терапии. Достоверное отличие, имеющее пограничное значение отмечается при сравнении ХНУС и группы 5, значение МГ в которой выше, чем после ХНУС ($p=0,051$) При этом относительно ХНУС показатели после терапии в группе 5 имеют статистически достоверно более высокие значения, чем в группе 3 ($p=0,038$).

Множественные сравнения МСГ демонстрируют статистически достоверные различия в группе до эксперимента со всеми группами терапии ($p=0,000$), показатели в которых ниже. Сравнение после формирования ХНУС статистически выше, чем в группах терапии и показателей до эксперимента. ($p=0,000$). Дополнительно, регистрируются статистически значимые более высокие показатели группы 5 и групп 3 ($p=0,023$) и 4 ($p=0,029$).

Таблица 32 – Множественные сравнения показателей МГ в эритроцитах и МСГ до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 7,011 $p = 0,072$				
МГ в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,702 (0,639; 0,749)	1,000	0,067	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,705 (0,698; 0,742)	0,324	1,000
группа 5, амитриптилин	0,067	0,324	Me (Q25; Q75) 0,783 (0,740; 0,817)	0,374
до начала эксперимента	1,000	1,000	0,374	Me (Q25; Q75) 0,736 (0,622; 0,811)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 8,934 $p = 0,030$				
МГ в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,702 (0,639; 0,749)	1,000	0,038*	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,705 (0,698; 0,742)	0,386	1,000
группа 5, амитриптилин	0,038*	0,386	Me (Q25; Q75) 0,783 (0,740; 0,817)	0,051
ХНУС	1,000	1,000	0,051	Me (Q25; Q75) 0,704 (0,661; 0,805)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 33,24 $p = 0,000^*$				
МСГ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 5,055 (4,732; 5,833)	1,000	1,000	0,006*

Продолжение таблицы 32

1	2	3	4	5
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 5,106 (4,622; 5,218)	1,000	0,002*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 4,649 (4,471; 4,858)	0,000*
до начала эксперимента	0,006*	0,002*	0,000*	Me (Q25; Q75) 7,113 (6,714; 8,464)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 37,36 p = 0,000*				
МСГ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 5,055 (4,732; 5,833)	1,000	0,710	0,005*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 5,106 (4,622; 5,218)	1,000	0,001*
группа 5, амитриптилин	0,710	1,000	Me (Q25; Q75) 4,649 (4,471; 4,858)	0,000*
ХНУС	0,005*	0,001*	0,000*	Me (Q25; Q75) 6,542 (6,098; 6,989)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

При анализе оксидантного стресса в группах терапии отмечается тенденция к пролонгации процессов окисления после терапии. Так при терапии плацебо в группе 3 отмечается увеличение РКПБ в плазме (p=0,014), на 333,27% относительно исходных показателей, МДА в эритроцитах (p=0,001) на 69,92%, МДА в плазме (p=0,003) на 31,54%. При этом РКПБ эритроцитов снижается относительно исходных показателей (p=0,522) на 34,95%, МГ снижается (p=1,000) на 4,89%, МСГ (p=0,006) на 28,86%. При терапии гармина гидрохлоридом в группе 4 РКПБ в плазме, относительно исходных показателей, повышается (p=0,000) на 449,8%, МДА в эритроцитах (p=0,025) на 50,66%, МДА в плазме (p=0,073) на 29,72%. РКПБ эритроцитов снижается относительно исходных показателей (p=1,000) на 12,71%, МГ (p=1,000) на 3,53%, МСГ (p=0,002) на 28,16%.

При терапии амитриптилином в группе 5 РКПБ в плазме, относительно исходных показателей повышается (p=0,000) на 430,88%, МДА в эритроцитах (p=0,001) на 51,79%, МДА в плазме (p=0,000) на 59,3%, МГ (p=0,374) на 5,98%. РКПБ эритроцитов относительно исходных данных снижается (p=1,000) на 22,67%, МСГ (p=0,000) на 34,63%.

Таким образом, во всех группах терапии процесс окислительного стресса продолжается, что подтверждается статистически достоверными данными и тенденциями, не подтвержденными достоверно. При этом в группе плацебо отмечается достоверное наименьшее повышение РКПБ плазмы, и не подтвержденное достоверно РКПБ эритроцитов. При этом в группе гармина гидрохлорида достоверно не подтвержденное минимальное повышение МДА в плазме, тогда как в группе плацебо достоверное снижение, сопоставимое с процентом снижения в группе 4. Отмечается достоверное снижение МСГ во всех

группах, наиболее выраженное в группе амитриптилина, что также является повреждающим фактором эритроцитов. Анализируя все имеющиеся данные, отмечается различная степень влияния на процессы окислительного метаболизма в группах терапии, однако ни одна из групп не демонстрирует ограничивающего влияния на оксидантный стресс, что предрасполагает к проведению лонгитюдного исследования.

3.2.3 Оценка изменений показателей пуринового обмена в эритроцитах и плазме крови крыс

Абсолютные показатели пуринового обмена.

Результаты изменения показателей гуанина в эритроцитах и плазме представлены на рисунке 56. Изменения гуанина в эритроцитах, представленные на рисунке 56 а характеризуются снижением после формирования модели ХНУС на 12,99% последующим возрастанием его уровня, превышающим исходные данные и показатели ХНУС. Так увеличение гуанина в эритроцитах относительно исходного уровня составляют в 3-й группе 5,22%, относительно ХНУС 20,93%, в 4-й группе 15,52% и 32,76%, в 5-й группе 26,72% и 45,63% соответственно.

Гуанин в плазме, показатели которого представлены на рисунке 56 б на фоне формирования модели ХНУС показал снижение на 27,65%, на фоне терапии возрастают относительно исходных показателей и ХНУС. Так увеличение в группе 3 относительно исходных показателей составило 0,88%, что является сопоставимыми показателями, относительно ХНУС превысило показатели на 39,45%. Увеличение показателей относительно исходных в группе 4 составило 5,53%, относительно ХНУС 45,87%; в группе 5 увеличение на 4,2% и 44,04% соответственно. Таким образом можно говорить о схожей динамике изменения гуанина в эритроцитах и плазме, характеризующихся снижением после формирования модели ХНУС и последующим нарастанием его до или выше исходных уровней.

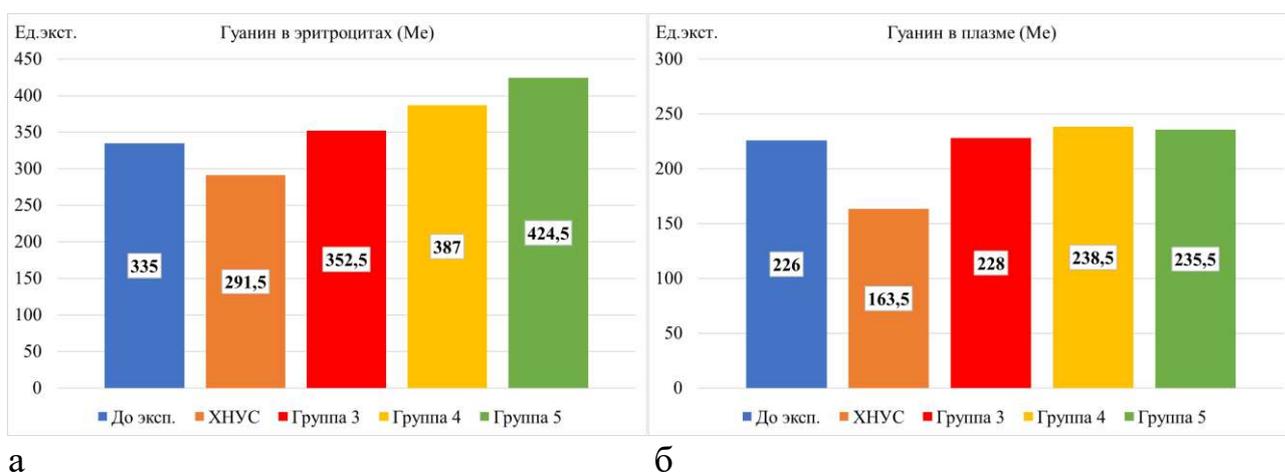


Рисунок 56 – Результаты исследования гуанина в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Множественные сравнения (p-уровни) показателей пуринов – гуанина, гипоксантина, аденина, ксантина и мочевой кислоты в эритроцитах и плазме крови до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и после терапии были рассчитаны с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса ($\alpha=0,05$). Результаты исследования представлены в таблицах 33–37.

В таблице 33 представлены результаты множественных сравнений групп терапии, исходных данных и показателей после формирования модели ХНУС.

По результатам множественных сравнений гуанина в эритроцитах и плазме, представленных в таблице 33 показатели гуанина в эритроцитах до начала эксперимента статистически ниже показателя только 5 группы терапии ($p=0,001$). Другие сравнения, в том числе и между группами терапии не являются статистически значимыми. Сравнение групп терапии и показателей ХНУС демонстрируют статистически значимый более низкий показатель чем во всех группах после терапии – чем в группе 3 ($p=0,043$), в группе 4 ($p=0,001$) и в группе 5 ($p=0,000$). При этом статистически значимых различий между показателями в трех группах терапии не выявляется.

Множественные сравнения гуанина в плазме статистически не отличаются от исходных показателей и между собой. Сравнение групп терапии не выявляют различий между собой, но имеют статистически более высокий показатель, чем данные ХНУС ($p=0,000$) демонстрируют более низкие показатели до начала эксперимента чем в группах терапии ($p=0,000$). В группе ХНУС отмечается увеличение показателей, сравнительно с началом эксперимента и достоверно более низкие показатели, чем в 3, 4, 5 группах терапии ($p=0,000$).

Таблица 33 – Множественные сравнения показателей гуанина, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) = 16,07 p = 0,001				
Гуанин в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 352,5 (325,0; 419,0)	1,000	0,243	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 387,0 (331,0; 440,0)	1,000	0,081
группа 5, амитриптилин	0,243	1,000	Me (Q25; Q75) 424,5 (407,0; 455,0)	0,001*
до начала эксперимента	1,000	0,081	0,001*	Me (Q25; Q75) 335,0 (301,0; 365,0)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 29,81 p = 0,000*				
Гуанин в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 352,5 (325,0; 419,0)	1,000	0,657	0,043*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 352,5 (325,0; 419,0)	1,000	0,001*

Продолжение таблицы 33

1	2	3	4	5
группа 5, амитриптилин	0,657	1,000	Me (Q25; Q75) 352,5 (325,0; 419,0)	0,000*
ХНУС	0,043*	0,001*	0,000*	Me (Q25; Q75) 291,5 (271,0; 336,0)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 1,118 p = 0,773				
Гуанин в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 228,0 (224,0; 250,0)	1,000	1,000	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 238,5 (229,0; 260,0)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 235,5 (220,0; 252,0)	1,000
до начала эксперимента	1,000	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 226,0 (215,0; 259,0)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =42,85 p =0,000*				
Гуанин в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 228,0 (224,0; 250,0)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 238,5 (229,0; 260,0)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 235,5 (220,0; 252,0)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 163,5 (146,0; 181,0)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

Показатели Гк в плазме и эритроцитах представлены на рисунке 57. При формировании модели ХНУС отмечается снижение уровня Гк в эритроцитах на 12,52%, с последующим повышением его уровня после проведения терапии в группе 3 на 1,65%, относительно исходного уровня и на 16,19%, относительно ХНУС, в группе 4 на 11,14% и на 27,04%, в группе 5 на 22,01% и на 39,46% соответственно, что демонстрирует рисунок 57 а.

При этом Гк в плазме, динамика которого представлена на рисунке 57 б на фоне ХНУС снижается на 22,58% относительно исходных показателей. После терапии показатели в группах терапии увеличиваются. Отмечается увеличение Гк во всех группах незначительно превышающая исходные значения. Так увеличение показателей относительно исходного уровня Гк в группе 3 составило 5,46%, превысило уровень показателей модели ХНУС на 36,22%, в группе 4 на 2,48% и 32,37%, в группе 5 на 0,99% и на 30,45% соответственно.

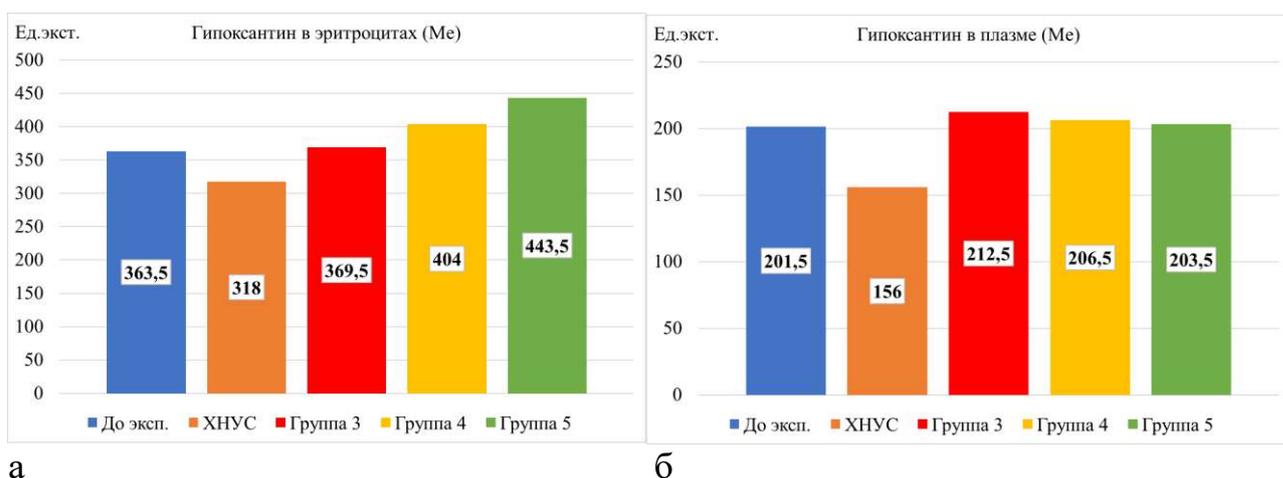


Рисунок 57 – Результаты исследования гипоксантина в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Результаты множественных сравнений гипоксантина в эритроцитах и плазме, представлены в таблице 34.

Показатели гипоксантина в эритроцитах до начала эксперимента статистически ниже показателей исключительно группы 5 ($p=0,003$). Статистические отличия в других сравнениях до эксперимента отсутствуют. При сравнении групп терапии с показателями модели ХНУС выявлено статистически значимый более низкий уровень показателей чем в 4 ($p=0,001$) и 5 ($p=0,000$) группах терапии. Достоверных отличий между группами не выявлено.

Множественные сравнения гипоксантина в плазме не выявляют достоверных отличий от групп терапии. Отмечаются более низкие показатели после формирования модели ХНУС, имеющие статистически достоверные отличия с группой 3 ($p=0,000$), группой 4 ($p=0,000$), группой 5 ($p=0,001$), показатели которых выше.

Таблица 34 – Множественные сравнения показателей гипоксантина, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса Н (3, N = 60) = 14,73 p = 0,002*				
Гипоксантин в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Ме (Q25; Q75) 369,5 (342,0; 443,0)	1,000	0,225	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Ме (Q25; Q75) 404,0 (396,0; 466,0)	1,000	0,089
группа 5, амитриптилин	0,225	1,000	Ме (Q25; Q75) 443,5 (418,0; 485,0)	0,003*
до начала эксперимента	1,000	0,089	0,003*	Ме (Q25; Q75) 363,5 (317,0; 394,0)

Продолжение таблицы 34

H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 28,42 p = 0,000*				
Гипоксантин в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 369,5 (342,0; 443,0)	1,000	0,476	0,101
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 404,0 (396,0; 466,0)	1,000	0,001*
группа 5, амитриптилин	0,476	1,000	Me (Q25; Q75) 443,5 (418,0; 485,0)	0,000*
ХНУС	0,101	0,001*	0,000*	Me (Q25; Q75) 318,0 (301,0; 362,0)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 0,358 p = 0,949				
Гипоксантин в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 212,5 (191,0; 222,0)	1,000	1,000	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 206,5 (195,0; 228,0)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 203,5 (186,0; 219,0)	1,000
до начала эксперимента	1,000	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 201,5 (192,0; 235,0)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =35,91 p =0,000*				
Гипоксантин в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 212,5 (191,0; 222,0)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 206,5 (195,0; 228,0)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 203,5 (186,0; 219,0)	0,001*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,001*	Me (Q25; Q75) 156,0 (136,0; 174,0)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

На рисунке 58 показана динамика аденина в эритроцитах и плазме.

Содержание аденина в эритроцитах, представленное на рисунке 58 а демонстрирует снижение уровня аденина на фоне ХНУС на 15,76% последующее повышение его на после проведения терапии, которое в группе 3 сохраняется на 0,9% ниже исходного, но выше ХНУС на 17,62%. Увеличение относительно исходных показателей в группе 4 составляет 8,85%, относительно уровня показателей ХНУС на 29,21%, в группе 5 на 18,36% и на 40,49% соответственно.

Изменение показателей аденина в плазме, представленное на рисунке 58 б демонстрирует снижение уровня на 18,66% на фоне ХНУС и последующее повышение после терапии. Относительно исходных показателей в группах терапии отмечается увеличение в группе 3 – на 1,39%, в группе 4 показатель сохраняется ниже исходного на 0,84%, в группе 5 на 2,51%. Относительно

показателей после формирования модели ХНУС увеличение аденина в плазме во всех группах терапии повышается – в 3-й группе на 24,66%, в 4-й группе на 21,92%, в 5-й группе на 19,86%.

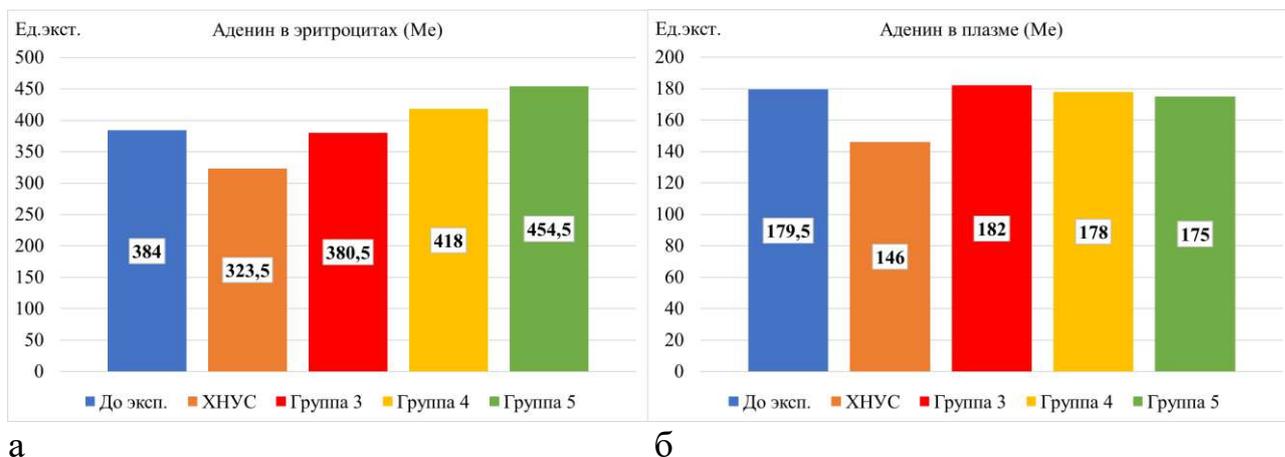


Рисунок 54 – Результаты исследования аденина в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Результаты множественных сравнений аденина в эритроцитах и плазме представлены в таблице 35. Сравнение групп терапии и показателей до начала эксперимента демонстрируют достоверно более низкий показатель, чем в группе 5 ($p=0,022$). При сравнении показателей модели ХНУС и групп терапии регистрируются более низкие показатели, чем в группе 4 ($p=0,002$), и в группе 5 ($p=0,000$). Статистически значимых отличий аденина в эритроцитах между группами не выявляется.

При проведении множественных сравнений исходных показателей аденина в плазме и групп терапии статистически значимых отличий не выявляется. При проведении множественных сравнений групп терапии с группой ХНУС выявляются достоверно более низкие показатели чем в группе 3 ($p=0,002$), группе 4 ($p=0,002$) и группе 5 ($p=0,017$). Достоверных отличий показателей между группами не выявляется.

Таблица 35 – Множественные сравнения показателей аденина, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) = 9,461 $p = 0,024$				
Аденин в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Ме (Q25; Q75) 380,5 (351,0; 462,0)	1,000	0,324	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Ме (Q25; Q75) 418,0 (357,0; 475,0)	1,000	0,628

Продолжение таблицы 35

группа 5, амитриптилин	0,324	1,000	Me (Q25; Q75) 454,5 (429,0; 504,0)	0,022*
до начала эксперимента	1,000	0,628	0,022*	Me (Q25; Q75) 384,0 (338,0; 415,0)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 27,17 p = 0,000*				
Аденин в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 380,5 (351,0; 462,0)	1,000	0,657	0,072
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 418,0 (357,0; 475,0)	1,000	0,002*
группа 5, амитриптилин	0,657	1,000	Me (Q25; Q75) 454,5 (429,0; 504,0)	0,000*
ХНУС	0,072	0,002*	0,000*	Me (Q25; Q75) 323,5 (304,0; 358,0)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 0,589 p = 0,899				
Аденин в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 182,0 (166,0; 190,0)	1,000	1,000	1,000
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 178,0 (167,0; 194,0)	1,000	1,000
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 175,0 (164,0; 188,0)	1,000
до начала эксперимента	1,000	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 179,5 (167,0; 207,0)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 23,31 p = 0,000				
Аденин в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 182,0 (166,0; 190,0)	1,000	1,000	0,002*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 178,0 (167,0; 194,0)	1,000	0,002*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 175,0 (164,0; 188,0)	0,017*
ХНУС	0,002*	0,002*	0,017*	Me (Q25; Q75) 146,0 (138,0; 167,0)
Примечание – * Статистически значимые различия если p ≤ 0,05				

Динамика изменения ксантина в эритроцитах и плазме крови представлена на рисунке 59.

На рисунке 59 а демонстрируется изменение ксантина в эритроцитах при формировании модели ХНУС, уровень которого снижается на 11,96%. Дальнейшее увеличение показателей в группах терапии относительно исходного уровня и модели ХНУС в 3-й группе составило 16,57% и 32,41%, в 4-й группе 23,1% и 39,81%, в 5-й группе 42,12% и 61,41% соответственно. Таким образом, наибольшее повышение ксантина после терапии отмечается в группе 5, однако

во всех группах терапии уровень ксантина в эритроцитах превышает исходные показатели.

Изменения показателей ксантина в плазме, представленное на рисунке 59 б, где отмечается снижение ксантина на 22,75% от исходного уровня при формировании модели ХНУС. При этом после терапии во всех группах отмечается рост показателей, превышающий как исходный уровень, так и уровень ХНУС. Повышение уровня ксантина в группе 3 от исходного уровня отмечено на 19,76%, относительно ХНУС на 55,04%, в группе 4 на 26,65% и 63,95%, в группе 5 на 25,75% и 62,79% соответственно. Максимальное повышение уровня ксантина в плазме нами отмечено в группах 4 и 5. Однако показатели всех групп терапии после лечения сохраняются выше исходного уровня.

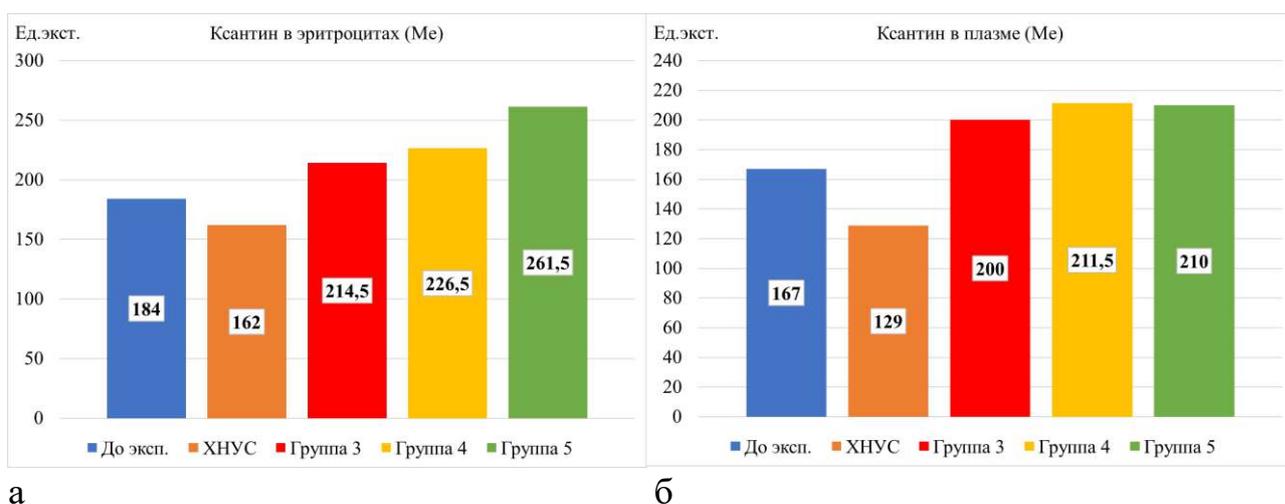


Рисунок 59 – Результаты исследования ксантина в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Результаты множественных сравнений ксантина, представлены в таблице 36. При проведении множественных сравнений ксантина в эритроцитах групп терапии и исходных показателей статистически достоверные отличия с более высоким уровнем показателей отмечены в группе 4 ($p=0,049$) и группе 5 ($p=0,000$). При сравнении данных групп терапии с моделью ХНУС показатели во всех группах терапии достоверно выше ХНУС – в группе 3 ($p=0,005$), группе 4 ($p=0,000$), в группе 5 ($p=0,000$). При этом статистически значимых отличий между группами терапии не было выявлено.

Анализ изменений уровня ксантина в плазме при сравнении исходных показателей с группами терапии демонстрирует достоверно более высокий уровень лишь в группе 5 ($p=0,040$). Достоверных отличий с другими группами исходных данных и между группами не выявили. Отмечается достоверно более низкий показатель в модели ХНУС при сравнении со всеми группами терапии – 3, 4, 5 ($p=0,000$).

Таблица 36 – Множественные сравнения показателей ксантина, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 19,07 p = 0,000*				
Ксантин в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 214,5 (189,0; 265,0)	1,000	0,539	0,347
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 226,5 (209,0; 267,0)	1,000	0,049*
группа 5, амитриптилин	0,539	1,000	Me (Q25; Q75) 261,5 (248,0; 303,0)	0,000*
до начала эксперимента	0,347	0,049*	0,000*	Me (Q25; Q75) 184,0 (164,0; 197,0)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =36,84 p =0,000*				
Ксантин в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 214,5 (189,0; 265,0)	1,000	0,845	0,005*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 226,5 (209,0; 267,0)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,845	1,000	Me (Q25; Q75) 261,5 (248,0; 303,0)	0,000*
ХНУС	0,005*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 162,0 (151,0; 181,0)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) = 11,89 p = 0,008				
Ксантин в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 200,0 (181,0; 219,0)	1,000	1,000	0,252
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 211,5 (198,0; 219,0)	1,000	0,082
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 210,0 (202,0; 227,0)	0,040*
до начала эксперимента	0,252	0,082	0,040*	Me (Q25; Q75) 167,0 (149,0; 183,0)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =43,15 p =0,000				
Ксантин в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 200,0 (181,0; 219,0)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 211,5 (198,0; 219,0)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 210,0 (202,0; 227,0)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 129,0 (116,0; 148,0)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

Результаты изменения показателей мочевой кислоты представлены на рисунке 60. Показатели МК в эритроцитах, представленные на рисунке 60 а демонстрируют повышение уровня МК после формирования модели ХНУС на 8,77% с последующим значительным повышением показателей в группах терапии по ее завершению. Так повышение МК в эритроцитах относительно исходного уровня в группе 3 составило 95,61%, относительно показателей ХНУС на 79,84%, в группе 4 повышение уровня МК от исходного на 110,53% и на 93,55% от уровня ХНУС, в группе 5 повышение на 148,25% и 128,22% соответственно. Динамика изменений МК в плазме, представленная на рисунке 60 б демонстрирует снижение содержания МК в плазме после формирования модели ХНУС на 10,58%, тогда как после терапии значения МК возрастают во всех группах терапии. Так, в группе 3 отмечается увеличение концентрации МК на 92,31% от исходного уровня и на 115,05% от уровня модели ХНУС, в группе 4 повышение отмечается на 80,77% и на 102,15%, в группе 5 на 76,92% и на 97,85% соответственно.

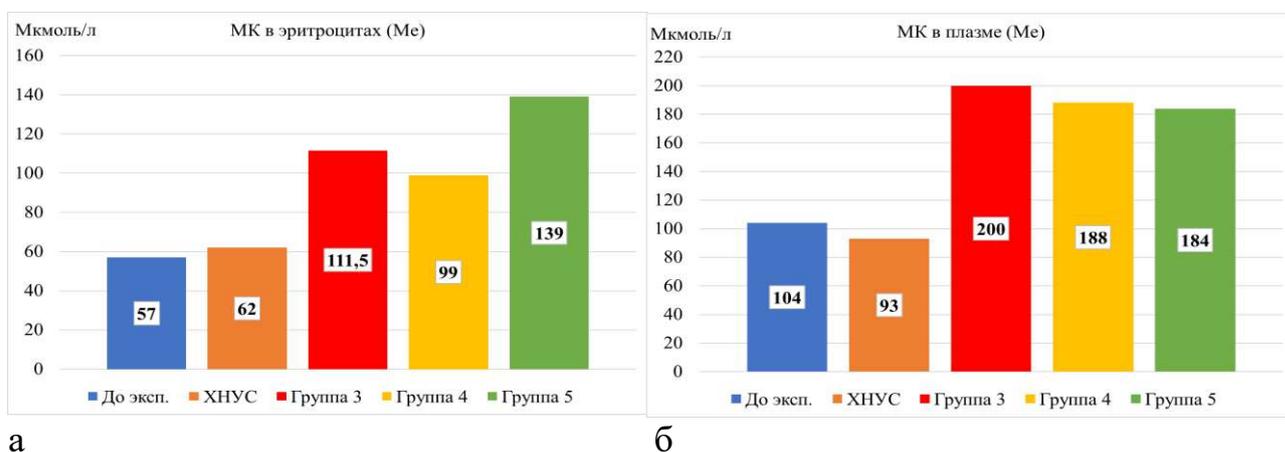


Рисунок 60 – Результаты исследования МК в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Результаты множественных сравнений мочевой кислоты в эритроцитах и плазме в группах представлены в таблице 37. По результатам сравнения показателей МК в эритроцитах отмечается статистически достоверное более низкое содержание МК до начала эксперимента, чем в группе 3 ($p=0,001$), группе 4 ($p=0,001$), группе 5 ($p=0,000$). В случае множественных сравнений групп терапии и Модели ХНУС показатели ХНУС достоверно ниже, чем в 3–5 группах терапии ($p=0,000$). Достоверных отличий между группами терапии в обоих случаях множественных сравнений МК в эритроцитах не отмечается. Множественные сравнения содержания МК в плазме исходных данных до эксперимента с группами терапии и сравнение модели ХНУС с показателями всех групп терапии демонстрируют в обоих случаях статистически достоверные более низкие показатели чем в группах терапии – 3, 4, 5 ($p=0,000$). При этом отличий между группами терапии не определяется.

Таблица 37 – Множественные сравнения показателей МК, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 38,41 p = 0,000*				
Мочевая кислота в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 111,5 (99,0; 139,0)	1,000	1,000	0,001*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 120,0 (102,0; 135,0)	1,000	0,001*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 141,5 (126,0; 160,0)	0,000*
до начала эксперимента	0,001*	0,001*	0,000*	Me (Q25; Q75) 57,00 (49,00; 65,00)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =45,89 p =0,000*				
Мочевая кислота в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 111,5 (99,0; 139,0)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 120,0 (102,0; 135,0)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 141,5 (126,0; 160,0)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 62,00 (54,00; 68,00)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N = 60) = 38,14 p = 0,000*				
Мочевая кислота в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 200,0 (186,0; 228,0)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 188,0 (174,0; 212,0)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 184,0 (178,0; 207,0)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 104,0 (90,00; 116,0)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =44,54 p =0,000*				
Мочевая кислота в плазме	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 200,0 (186,0; 228,0)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 188,0 (174,0; 212,0)	1,000	0,000*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 184,0 (178,0; 207,0)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 93,00 (77,00; 104,0)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

Необходимо отметить, что во всех 4 вариантах сравнения МК в эритроцитах и плазме выявляется статистическое равенство во всех группах терапии множественных сравнениях с исходными данными и моделью ХНУС ($p=1,000$)

При терапии плацебо в группе 3 показатели гуанина в эритроцитах относительно исходного уровня увеличивается ($p=1,000$) на 5,22%, в плазме ($p=1,000$) на 0,88%, гипоксантин в эритроцитах повышается ($p=1,000$) на 1,65%, в плазме повышается ($p=1,000$) на 5,46%, аденин в эритроцитах снижается ($p=1,000$) на 0,9%, в плазме повышается ($p=1,000$) на 1,39%, ксантин в эритроцитах увеличивается ($p=0,347$) на 16,57%, в плазме ($p=0,252$) на 19,76%.

МК в эритроцитах повышалась относительно исходного уровня ($p=0,001^*$) на 95,61%, МК в плазме ($p=0,000^*$) на 92,31%.

При терапии гармина гидрохлоридом в группе 4 отмечается, что значение гуанина в эритроцитах относительно исходного уровня увеличивается ($p=0,081$) на 15,52%, в плазме ($p=1,000$) на 5,53%, гипоксантин в эритроцитах повышается ($p=0,089$) на 11,14%, в плазме ($p=1,000$) на 2,48%, Аденин в эритроцитах выше ($p=0,628$) на 8,85%, в плазме ниже ($p=1,000$) на 0,84%, ксантин в эритроцитах увеличился ($p=0,049^*$) на 23,1%, в плазме ($p=0,082$) на 26,65%.

МК в эритроцитах повышалась относительно исходного уровня на ($p=0,001^*$) 110,53%, МК в плазме ($p=0,000^*$) на 80,77%.

При терапии амитриптилином в группе 5 отмечается, что уровень гуанина в эритроцитах относительно исходного уровня увеличивается ($p=0,001$) на 26,72%, в плазме ($p=1,000$) на 4,2%, гипоксантин в эритроцитах повышается ($p=0,003^*$) на 22,01%, в плазме ($p=1,000$) на 0,99%, аденин в эритроцитах повышается ($p=0,022^*$) на 18,36%, в плазме снизился ($p=1,000$) на 2,51%, ксантин в эритроцитах увеличился ($p=0,000^*$) на 42,12%, в плазме ($p=0,040^*$) на 25,75%.

МК в эритроцитах повышалась относительно исходного уровня ($p=0,000^*$) на 148,25%, МК в плазме увеличилась ($p=0,000^*$) на 76,92%.

Таким образом при множественных сравнениях в группах терапии с показателями до начала терапии, достоверно значимые показатели различий в группе плацебо отсутствуют, за исключением сопоставимого повышения мочевой кислоты в эритроцитах и плазме. В группе гармина гидрохлорида не отмечается значимого снижения показателей ни в одном из случаев, отмечается повышение большинства показателей статистически не подтверждающихся, за исключением повышения ксантина в эритроцитах и мочевой кислоты в эритроцитах и плазме крови.

В группе терапии амитриптилином отмечается большее количество наблюдений статистически значимого повышения показателей, таких как гипоксантина и аденина в эритроцитах, ксантина и мочевой кислоты в эритроцитах и плазме крови. Данные расчеты демонстрируют наиболее высокий уровень пролонгированного оксидантного стресса в группе амитриптилина, преимущественно в эритроцитарном домене и плазменном, что говорит о системном и локальном процессах. Более «мягкое течение оксидантного стресса отмечается в группе гармина гидрохлорида, характеризующееся, как правило, нарастанием показателей, не достигающих статистической значимости, за

исключением увеличением ксантина в эритроцитах и мочевой кислоты в плазме и эритроцитах. Группа плацебо при этом демонстрирует продолжающуюся оксидативную активность с минимальными показателями прироста, в большинстве случаев $p=1,000$, за исключением увеличения мочевой кислоты в эритроцитах и плазме. Так, можно предположить, что по показателям окисления пуринов терапия плацебо демонстрирует результаты большей направленности на лимитирование процессов окисления, что требует проверки по данным расчетов изменения индексов пуринового обмена.

Индексы показателей пуринового метаболизма

Данный раздел представляет характеристику пуринового катаболизма с оценкой индекса пуринового обмена, этапов активации ксантиноксидазы и показателя тканевой гипоксии.

На рисунке 61 представлена динамика ИПО (индекс пуринового обмена), характеризующего необратимость катаболизма пуринов в эритроцитах и плазме крови. На рисунке 61 а отражена динамика изменений ИПО в эритроцитах на основании расчета медиан. На фоне формирования модели ХНУС отмечается снижение показателя на 7,13% от исходного уровня. В последующем, после терапии, ИПО продолжает снижаться во всех группах терапии в группе 3 на 23,47% от исходного уровня и на 17,6% от показателей ХНУС, в группе 4 снижение отмечается на 23,07% от исходных значений и на 17,16% от Уровня модели ХНУС, в 5 группе снижение отмечается на 26,98% и на 21,37% соответственно. Рисунок 61 б демонстрирует снижение ИПО в плазме на фоне ХНУС на 10,05%, В группах терапии отмечается снижение относительно исходных показателей и модели ХНУС, которые ниже в группе 3 на 34,25% от исходного значения и на 26,9% от значения модели ХНУС, в 4 группе на 32,72% и на 25,20%, в группе 5 на 34,14 и на 26,79% соответственно. Таким образом отмечается динамика к снижению ИПО как на фоне формирования модели ХНУС, так и после терапии как в эритроцитах, так и в плазме крови.

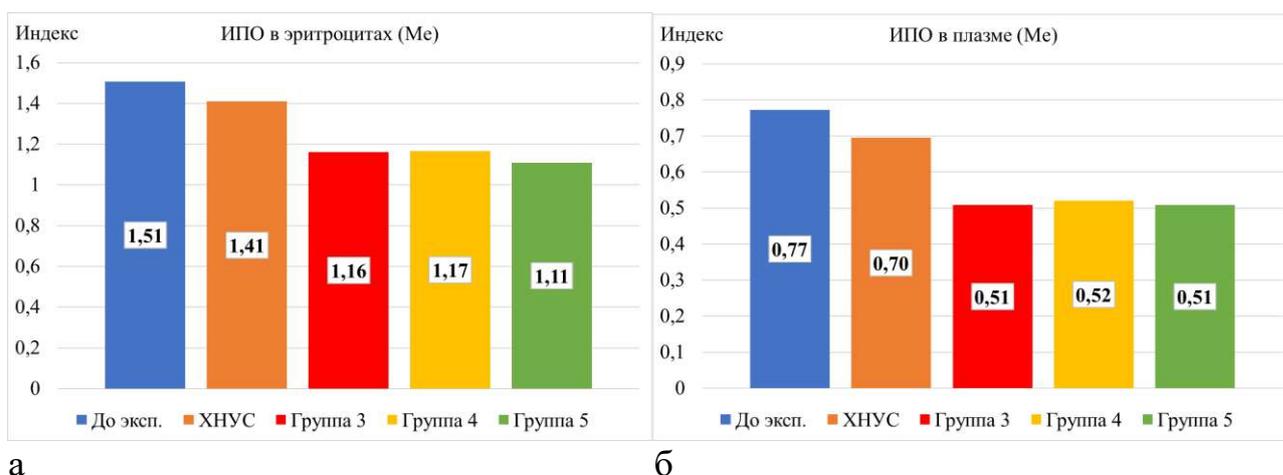


Рисунок 61 – Результаты исследования ИПО в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Множественные сравнения (p-уровни) относительных показателей индексов пуринового обмена эритроцитов и плазмы по группам терапии и до начала эксперимента проводились с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса для уровня значимости $\alpha=0,05$. Результаты исследования и сравнения показателей представлены в таблицах 38–42.

Результаты множественных сравнений ИПО в эритроцитах и плазме крови, представлены в таблице 38. По результатам множественных сравнений групп терапии с показателями до эксперимента (исходными) и показателями ХНУС во всех случаях отмечаются статистически достоверные более низкие показатели и в случае сравнения с исходными данными и с ХНУС во всех группах терапии ($p=0,000$), при отсутствии достоверных различий между группами за исключением более высокого показателя в группе 3, сравнительно с группой 5 ($p=0,011$) при анализе различий с показателями до эксперимента.

Таблица 38 – Множественные сравнения показателей ИПО, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
ИПО в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1,1609 (1,0924; 1,1789)	0,315	0,011*	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,315	Me (Q25; Q75) 1,1670 (1,1182; 1,2343)	0,063	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,011*	0,063	Me (Q25; Q75) 1,1077 (1,0737; 1,1182)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 1,5070 (1,4341; 1,6398)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
ИПО в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1,1609 (1,0924; 1,1789)	0,393	0,853	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,393	Me (Q25; Q75) 1,1670 (1,1182; 1,2343)	0,393	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,853	0,393	Me (Q25; Q75) 1,1077 (1,0737; 1,1182)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 1,4088 (1,3691; 1,5051)

Продолжение таблицы 38

H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
ИПО Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,5084 (0,4693; 0,5645)	0,393	0,971	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,393	Me (Q25; Q75) 0,5202 (0,5096; 0,5359)	0,280	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,971	0,280	Me (Q25; Q75) 0,5092 (0,4787; 0,5312)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,7732 (0,7329; 0,8031)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
ИПО Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,5084 (0,4693; 0,5645)	0,280	0,436	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,280	Me (Q25; Q75) 0,5202 (0,5096; 0,5359)	0,529	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,436	0,529	Me (Q25; Q75) 0,5092 (0,4787; 0,5312)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,6955 (0,6530; 0,7532)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

На рисунке 62 представлена динамика изменений показателей индекса ПТГ (показатель тяжести гипоксии), характеризующего степень насыщения тканей кислородом – в данном случае эритроцитов и плазмы крови.

ПТГ эритроцитов, представленная на рисунке 62 а после формирования ХНУС демонстрирует увеличение показателя индекса на 1,25% от исходного уровня. В группах терапии отмечается увеличение значений индекса на 10,15% от исходного значения и на 8,8% от показателей модели ХНУС в группе 3, на 8,61% и на 7,28% в группе 4, на 14,06%, и на 12,65% в группе 5 соответственно.

В плазме динамика ПТГ, представленная на рисунке 62 б, имеет тенденцию к постоянному нарастанию показателей. Увеличение показателя индекса ПТГ после формирования модели ХНУС составило 9,94%. В дальнейшем на фоне терапии отмечается рост показателей в группе 3 на 19,71% от исходного уровня и на 8,88% от значения индекса ПТГ модели ХНУС, как и в группе 4 на 19% и на 8,64%, в группе 5 на 22,49% и на 11,41%. Таким образом отмечается нарастание гипоксии в эритроцитах и плазме крови как непосредственно после

формирования модели ХНУС, так и после проведенной терапии. Проверка полученных данных и уровень их статистической значимости будет проведен с использованием множественных сравнений.

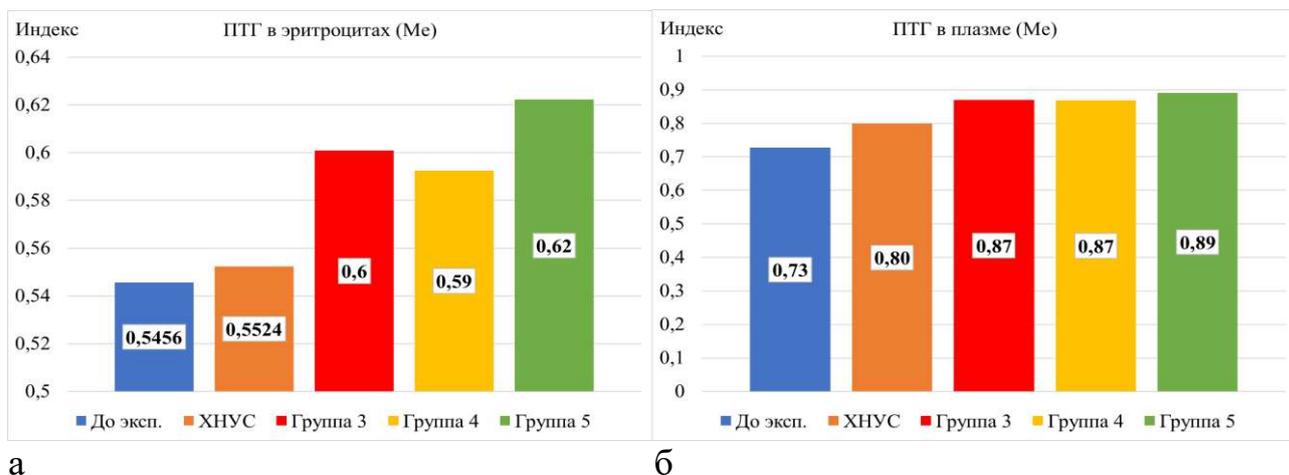


Рисунок 62 – Результаты исследования ПТГ в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Множественные сравнения значений всех групп терапии, исходных данных и значений индекса после формирования модели ХНУС, отраженные в таблице 39 во всех случаях демонстрируют статистически значимые более низкие показатели как индексов до эксперимента, так и сравнения с индексом после формирования модели ХНУС в эритроцитах и плазме ($p=0,000$). Отмечается статистически значимое превышение значения индекса в группе 5 над показателем группы 3 ($p=0,023$) и более низкое значение индекса группы 4, чем группы 5 ($p=0,005$) при сравнении с показателями ПТГ в эритроцитах до начала эксперимента.

Таблица 39 – Множественные сравнения показателей ПТГ, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) $p=0,000^*$				
ПТГ в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,6010 (0,5855; 0,6199)	0,529	0,023*	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,529	Me (Q25; Q75) 0,5926 (0,5806; 0,6171)	0,052	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,023*	0,052	Me (Q25; Q75) 0,6223 (0,6138; 0,6289)	0,000*

Продолжение таблицы 39

1	2	3	4	5
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,5456 (0,5167; 0,5587)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
ПТГ в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,6010 (0,5855; 0,6199)	0,143	0,631	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,143	Me (Q25; Q75) 0,5926 (0,5806; 0,6171)	0,247	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,631	0,247	Me (Q25; Q75) 0,6223 (0,6138; 0,6289)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,5524 (0,5316; 0,5668)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
ПТГ Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,8704 (0,7971; 0,8909)	0,853	0,247	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,853	Me (Q25; Q75) 0,8685 (0,8361; 0,8821)	0,890	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,247	0,890	Me (Q25; Q75) 0,8906 (0,8664; 0,9305)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,7271 (0,6937; 0,7610)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
ПТГ Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,8704 (0,7971; 0,8909)	0,796	0,436	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,796	Me (Q25; Q75) 0,8685 (0,8361; 0,8821)	0,529	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,436	0,529	Me (Q25; Q75) 0,8906 (0,8664; 0,9305)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,7994 (0,7736; 0,8362)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

Во всех других случаях сравнений групп статистически значимых различий не выявляется.

На рисунке 63 представлена динамика изменений показателей индекса К/Гк, характеризующего первый этап активации фермента ксантинооксидазы в эритроцитах и плазме крови.

Повышение индекса К/Гк в эритроцитах, представленное на рисунке 63 а, характеризуется нарастанием после формирования модели ХНУС на 1,65%. После проведения терапии отмечается дальнейшее увеличение показателей индекса К/Гк в эритроцитах во всех группах. Так в группе 3 увеличение составило 13,59%, относительно исходного уровня и 11,75%, относительно модели ХНУС, соответствующее увеличение отмечается в группе 4 – на 12,08% и на 10,26%, в группе 5 – на 17,89% и на 15,97.

Динамика изменений индекса К/Гк в плазме, представленная на рисунке 63 б так же демонстрирует повышение индекса после формирования модели ХНУС на 4,8%. В группах терапии после ее завершения отмечается увеличение показателя индекса К/Гк в плазме во всех группах, относительно вышеуказанных контрольных точек. Так увеличение в группе 3 относительно исходных показателей отмечено на 24,1%, относительно ХНУС на 18,41%, в группе 4 на 25,3% и на 19,56%, в группе 5 на 28,31% и на 22,44% соответственно. Необходимо отметить, что на фоне терапии во всех группах индекс К/Гк увеличился и сохраняется на уровне выше исходного и модели ХНУС.

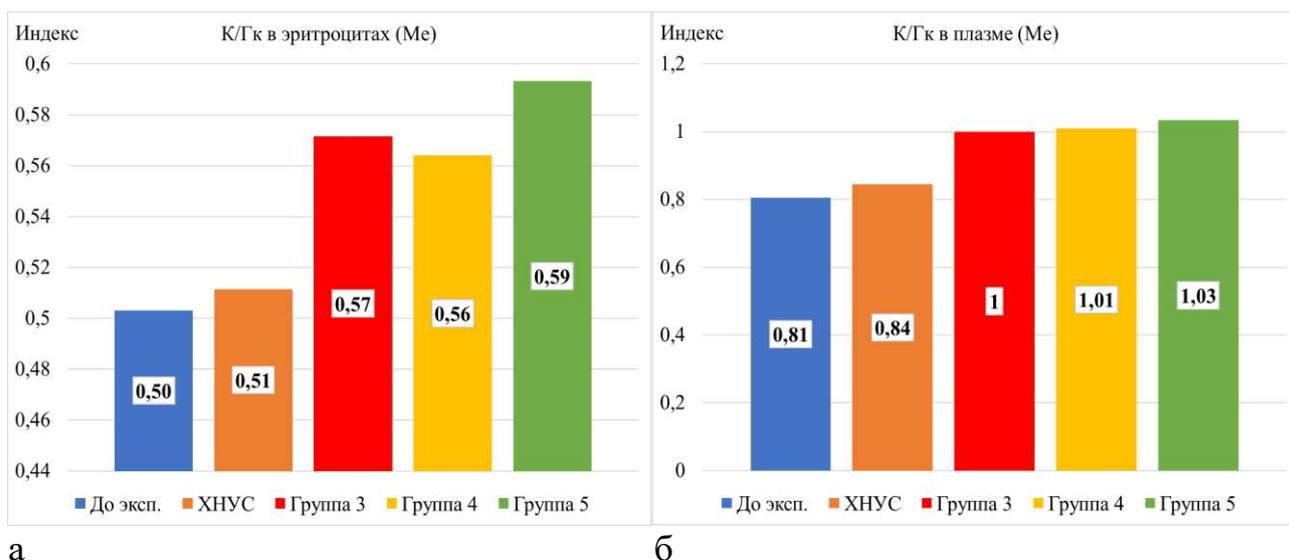


Рисунок 63 – Результаты исследования индекса К/Гк в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Результаты множественных сравнений индекса К/Гк в эритроцитах и плазме представлены в таблице 40. По данным сравнения расчетов индекса К/Гк в эритроцитах и плазме, представленных в таблице 40 отмечается статистически значимое отличие значения индекса К/Гк эритроцитов до эксперимента с группой 3 ($p=0,000$), группой 4 ($p=0,002$), группой 5 ($p=0,000$). Достоверно более высокие показатели в группе 5, чем в группе 3 ($p=0,052$) и группе 4 ($p=0,047$). При сравнении групп терапии с индексом К/Гк в эритроцитах модели ХНУС

значение индекса модели статистически ниже чем во всех группах терапии (p=0,000)

Показатели индекса К/Гк в плазме при множественных сравнениях групп терапии с исходными значениями индекса и значениями модели ХНУС достоверно ниже значений всех групп терапии в этих случаях сравнения (p=0,000). При этом достоверных различий между группами ни в одном случае не выявляется.

Таблица 40 – Множественные сравнения показателей индекса К/Гк, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
К/Гк в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,5716 (0,5604; 0,5892)	0,529	0,052	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,529	Me (Q25; Q75) 0,5640 (0,5460; 0,5889)	0,047*	0,002*
группа 5, амитриптилин	0,052	0,047*	Me (Q25; Q75) 0,5932 (0,5779; 0,6043)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,002*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,5032(0,4674; 0,5218)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000				
К/Гк в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,5716 (0,5604; 0,5892)	0,796	0,912	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,796	Me (Q25; Q75) 0,5640 (0,5460; 0,5889)	0,481	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,912	0,481	Me (Q25; Q75) 0,5932 (0,5779; 0,6043)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,5115 (0,4947; 0,5230)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000				
К/Гк Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1,0000 (0,9085; 1,0242)	0,684	0,089	0,000*

Продолжение таблицы 40

1	2	3	4	5
группа 4, гармина гидрохлорид	0,684	Me (Q25; Q75) 1,0097 (0,9585; 1,0250)	0,143	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,089	0,143	Me (Q25; Q75) 1,0340 (0,9939; 1,0751)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,8058 (0,7689; 0,8463)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
К/Гк Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 1,0000 (0,9085; 1,0242)	0,481	0,280	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,481	Me (Q25; Q75) 1,0097 (0,9585; 1,0250)	0,971	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,280	0,971	Me (Q25; Q75) 1,0340 (0,9939; 1,0751)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,8445 (0,8028; 0,8828)
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$				

На рисунке 64 представлена динамика изменений показателей индекса МК/К, характеризующего второй этап активации фермента ксантинооксидазы в эритроцитах и плазме крови.

Представленное на рисунке 64 а увеличение индекса МК/К в эритроцитах при формировании модели ХНУС характеризуется увеличением на 20,13%, с последующим нарастанием показателей индекса в группах терапии. Относительно исходного показателя индекса МК/К в эритроцитах увеличение в группе 3 составляет 72,43%, относительно индекса при ХНУС 43,54%, в группе 4 увеличение отмечается на 57,89% и на 31,44%, в группе 5 на 72,88% и на 43,91%, что демонстрирует значительную активность 2 этапа работы ксантинооксидазы в эритроцитах и соответствующее увеличение образования МК из К на фоне терапии.

Динамика индекса МК/К в плазме представлена на рисунке 64 б и характеризуется увеличением значения индекса МК/К от исходных показателей при формировании модели ХНУС на 15,5%. В дальнейшем, согласно расчету, представленному в графике увеличение индекса МК/К продолжается после терапии. Так в группе 3 увеличение относительно значения индекса до эксперимента выше на 60,17%, относительно ХНУС на 38,67%, в группе 4 на 53,24% и на 32,68%, в группе 5 на 50,85% и на 30,61% соответственно.

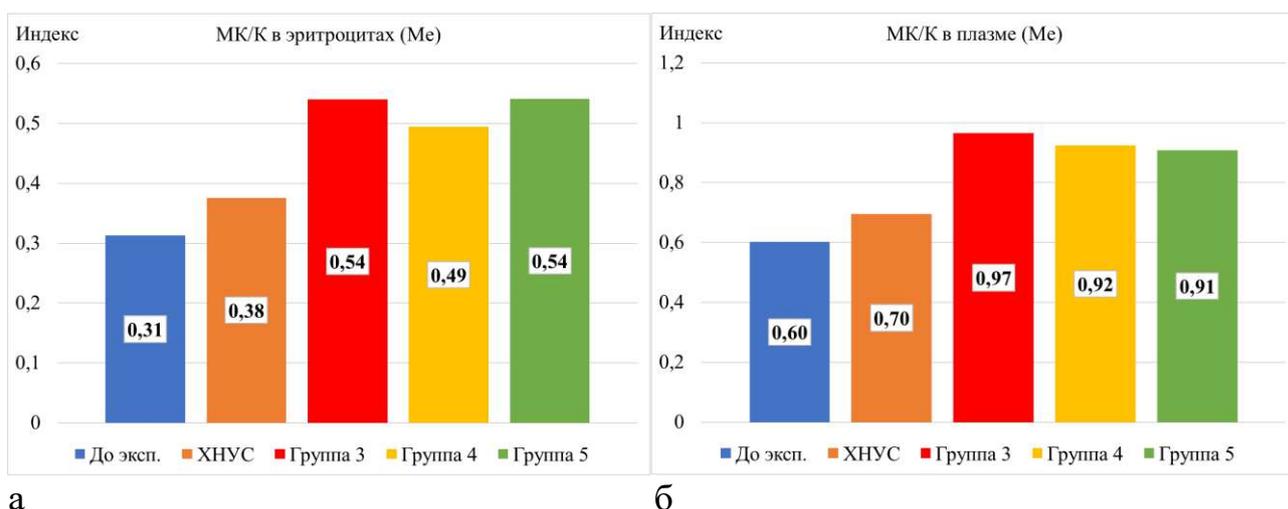


Рисунок 64 – Результаты исследования индекса МК/К в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Результаты множественных сравнений индекса МК/К в эритроцитах и плазме представлены в таблице 41. Согласно расчетам, показатель индекса МК/К в эритроцитах до начала эксперимента достоверно ниже показателей всех групп терапии ($p=0,000$). При этом в группе 5 отмечается достоверно более высокий показатель, чем в группе 3 ($p=0,043$), при отсутствии других различий между группами терапии. При сравнении групп терапии с моделью ХНУС достоверных отличий между группами не выявляется, но значение показателя индекса МК/К достоверно ниже, чем в группах терапии ($p=0,000$)

При множественных сравнениях индекса МК/К в плазме групп терапии и исходного значения индекса отмечается более высокое значение индекса в группе 3, чем в группе 5 ($p=0,052$), а значение исходного значения достоверно ниже, чем во всех группах терапии ($p=0,000$). Сравнение значения индекса МК/к в модели ХНУС и групп терапии показывает достоверно более низкий уровень чем в группах терапии ($p=0,000$), что подтверждает данные представленные на рисунке 64.

Таблица 41 – Множественные сравнения показателей индекса МК/К, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) $p =0,000^*$				
МК/К в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,5397 (0,4845; 0,5623)	0,529	0,043*	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,529	Me (Q25; Q75) 0,4942 (0,4835; 0,5414)	0,579	0,000*

Продолжение таблицы 41

1	2	3	4	5
группа 5, амитриптилин	0,043*	0,579	Me (Q25; Q75) 0,5411 (0,5035; 0,5718)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,3130 (0,2824; 0,3551)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
МК/К в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,5397 (0,4845; 0,5623)	0,393	0,796	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,393	Me (Q25; Q75) 0,4942 (0,4835; 0,5414)	0,684	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,796	0,684	Me (Q25; Q75) 0,5411 (0,5035; 0,5718)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,3760 (0,3554; 0,3925)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
МК/К Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,9650 (0,9130; 1,1398)	0,075	0,052	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,075	Me (Q25; Q75) 0,9233 (0,8741; 0,9552)	0,631	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,052	0,631	Me (Q25; Q75) 0,9089 (0,8806; 0,9332)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,6025 (0,5765; 0,6222)
H Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
МК/К Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,9650 (0,9130; 1,1398)	0,063	0,190	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,063	Me (Q25; Q75) 0,9233 (0,8741; 0,9552)	0,739	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,190	0,739	Me (Q25; Q75) 0,9089 (0,8806; 0,9332)	0,000*

Продолжение таблицы 41

ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,6959 (0,6689; 0,7551)
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$				

На рисунке 65 представлена динамика изменений показателей индекса МК/Гк, характеризующего два этапа активации фермента ксантинооксидазы в эритроцитах и плазме крови.

Как показано на рисунке 65 а, на фоне ХНУС в эритроцитах отмечается повышение индекса МК/Гк на 22,5% от исходного уровня и далее в группах терапии его повышение составляет: в группе 3 на 97,77% относительно исходного уровня и на 61,44% относительно значения индекса в модели ХНУС, в группе 4 на 79,97% и на 46,91%, в группе 5 на 100,76% и на 66,88% соответственно.

Показатели изменения индекса МК/Гк в плазме на рисунке 65 б демонстрируют его повышение на фоне ХНУС на 23,77%, с последующим нарастанием в группах терапии. Так увеличение индекса МК/Гк в 3-й группе относительно исходного уровня составляет 97,98%, а относительно ХНУС 59,96%, в 4-й группе 92,24% и 55,32%, в 5-й группе 90,99% и 54,31% соответственно, что демонстрирует схожую динамику изменений значений индекса МК/Гк с изменениями в эритроцитах. Таким образом, можно предположить, что на фоне терапии в эритроцитах и плазме крови продолжается увеличение активности ксантинооксидазы с формированием нерастворимых пуриновых производных.

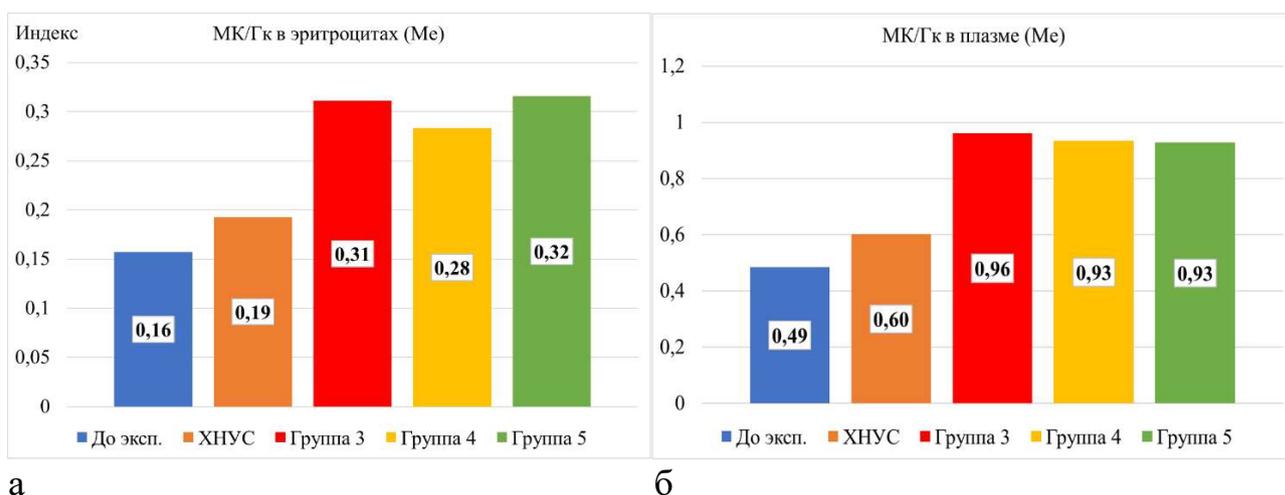


Рисунок 65 – Результаты исследования индекса МК/Гк в эритроцитах (а) и плазме (б) до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

В таблице 42 представлены результаты множественных сравнений индекса МК/Гк в эритроцитах и плазме. В результате множественных сравнений индекса

МК/Гк в эритроцитах в группах терапии и исходного значения индекса выявляется достоверное различие между группами 5 и 3, которая демонстрирует более высокий показатель в группе 5 ($p=0,029$). Также отмечается более низкое значение индекса до эксперимента, чем во всех группах терапии ($p=0,000$). При сравнении значения индекса модели ХНУС и групп терапии значение индекса в модели ХНУС ниже, чем в группах терапии ($p=0,000$).

Множественные сравнения индекса МК/Гк в плазме при сравнении значений до эксперимента и групп терапии демонстрируют более низкие значения, чем в группах терапии ($p=0,000$). Сравнение значений модели ХНУС и групп терапии выявляет более высокое значение в группе 3, чем в группе 4 ($p=0,052$) и более низкий показатель индекса в модели ХНУС чем во всех группах терапии ($p=0,000$).

Таблица 42 – Множественные сравнения показателей индекса МК/Гк, в эритроцитах и плазме до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) $p=0,000^*$				
МК/Гк в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,3111 (0,2764; 0,3262)	0,280	0,029*	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,280	Me (Q25; Q75) 0,2831 (0,2645; 0,3108)	0,315	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,029*	0,315	Me (Q25; Q75) 0,3158 (0,3015; 0,3365)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,1573 (0,1384; 0,1750)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) $p=0,000^*$				
МК/Гк в эритроцитах	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,3111 (0,2764; 0,3262)	0,190	0,796	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,190	Me (Q25; Q75) 0,2831 (0,2645; 0,3108)	0,280	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,796	0,280	Me (Q25; Q75) 0,3158 (0,3015; 0,3365)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,1927 (0,1731; 0,2055)

Продолжение таблицы 42

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
МК/Гк Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,9620 (0,8650; 1,1351)	0,274	0,579	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,274	Me (Q25; Q75) 0,9341 (0,8628; 0,9523)	0,353	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,579	0,353	Me (Q25; Q75) 0,9280 (0,8888; 0,9848)	0,000*
до начала эксперимента	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,4859 (0,4545; 0,5180)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) p =0,000*				
МК/Гк Плазма	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,9620 (0,8650; 1,1351)	0,052	0,190	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,052	Me (Q25; Q75) 0,9341 (0,8628; 0,9523)	0,739	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,190	0,739	Me (Q25; Q75) 0,9280 (0,8888; 0,9848)	0,000*
ХНУС	0,000*	0,000*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,6014 (0,5321; 0,6518)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

При терапии плацебо в группе 3 ИПО от исходного уровня снижается (p=0,000)* на 23,47%, в плазме (p=0,000) на 34,25%, ПТГ эритроцитов увеличивается (p=0,000) на 10,15%, в плазме (p=0,000) на 19,71%, индекс К/Гк в эритроцитах увеличился (p=0,000) на 13,59%, в плазме (p=0,000) на 24,1%, индекс МК/К в эритроцитах увеличивается (p=0,000) на 72,43%, в плазме (p=0,000) на 60,17%, индекс МК/Гк в эритроцитах повышается (p=1,000) на 97,77%, в плазме (p=1,000) на 97,98%.

При терапии гармина гидрохлоридом в группе 4 ИПО эритроцитов снижается (p=0,000) на 23,07%, в плазме (p=0,000) на 32,72%, ПТГ эритроцитов увеличивается (p=0,000) на 8,61%, в плазме (p=0,000) на 19%, индекс К/Гк в эритроцитах увеличился (p=0,002) на 12,08%, в плазме (p=0,000) на 25,3%, индекс МК/К в эритроцитах увеличивается (p=0,000) на 57,89%, в плазме (p=0,000) на 53,24%, индекс МК/Гк в эритроцитах повышается (p=1,000) на 79,97%, в плазме (p=1,000) на 92,24%.

При терапии amitriptилином в группе 5 ИПО в эритроцитах снижается ($p=0,000$) на 26,98%, ИПО в плазме ($p=0,000$) 34,14%, ПТГ эритроцитов увеличивается ($p=0,000$) на 14,06%, в плазме ($p=0,000$) на 22,49%, индекс К/Гк в эритроцитах увеличился ($p=0,000$) на 17,89%, в плазме ($p=0,000$) на 28,31%, индекс МК/К в эритроцитах увеличивается ($p=0,000$)* на 72,88%, в плазме ($p=0,000$) на 50,85%, индекс МК/Гк в эритроцитах повышается ($p=0,000$)* на 100,76%, в плазме ($p=0,000$) на 90,99%.

Все исследуемые показатели в трех группах терапии демонстрируют снижение ИПО, увеличение всех показателей, в том числе и ПТГ, свидетельствующей и снижении тяжести гипоксии, что может говорить о стабилизации процессов пуринового обмена, активном функционировании ксантиноксидазы с формированием конечного продукта обмена – мочевой кислоты, повышение которой отмечается в вышеописанном разделе, по результатам которого активность и стадии процессов в трех группах терапии находятся на различных этапах, но при этом показывают благоприятный тренд к разрешению оксидации пуринов после ХНУС с различием в активности процессов.

Таким образом, на основании полученных данных мы можем заключить, что хронический непредсказуемый умеренный стресс приводит к значительным нарушениям пуринового обмена у крыс, что проявляется в повышении уровня мочевой кислоты и изменении соотношений пуриновых оснований в эритроцитах и плазме крови.

Фармакологическая коррекция с использованием amitriptилина и гармина гидрохлорида способствует частичному восстановлению этих показателей, однако полного возвращения к исходным значениям не происходит, что свидетельствует о сохранении метаболических нарушений вследствие стресса.

3.2.4 Динамика изменения уровня кортизола в плазме крови

Показатели кортизола, представленные на рисунке 66 демонстрируют значительное увеличение его уровня после формирования модели ХНУС на 156,6%. Результаты после терапии показывают его снижение во всех трех группах, где в группе 5 снижение на 8,1% от исходного уровня и на 64,2% от ХНУС. В группе 3 и 4 снижение уровня кортизола не достигает исходного уровня и превышает его на 32,3% в группе 3 и на 34,4% в группе 4.

При этом снижение уровня кортизола относительно ХНУС составляет в 3-й группе 48,4%, в 4-й группе 47,6%. Таким образом максимальное снижение уровня кортизола после терапии регистрируется в группе 5, как указано ранее, на 8,1% от исходного уровня.

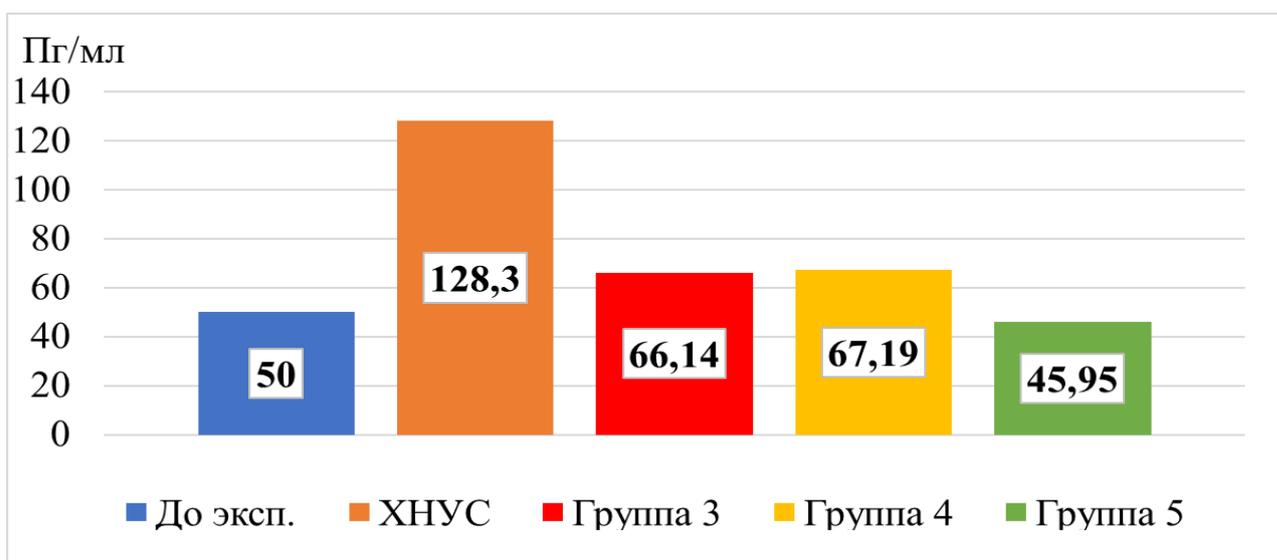


Рисунок 66 – Результаты исследования кортизола до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Множественные сравнения (p-уровни) показателей кортизола по завершению в трех группах терапии с показателями до начала эксперимента проведено с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса для уровня значимости $\alpha=0,05$.

Результаты исследования представлены в таблице 43, по результатам которых достоверных отличий между показателями до начала эксперимента и в группах терапии не выявляется. Сравнение модели ХНУС с группами терапии демонстрирует показатель в группе ХНУС достоверно выше группы 5 ($p=0,003$).

Таблица 43 – Множественные сравнения показателей кортизола в крови до начала эксперимента, после формирования модели ХНУС и в 3-х группах терапии

Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =3,508 p =0,320				
Кортизол	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	до начала эксперимента
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 66,14 (49,46; 89,54)	0,971	0,315	0,123
группа 4, гармина гидрохлорид	0,971	Me (Q25; Q75) 67,19 (43,57; 96,87)	0,436	0,165
группа 5, амитриптилин	0,315	0,436	Me (Q25; Q75) 45,93 (23,55; 84,65)	0,529
до начала эксперимента	0,123	0,165	0,529	Me (Q25; Q75) 50,00 (18,34; 72,48)
Н Критерий Краскела Уоллиса (3, N= 60) =8,655 p =0,034*				
Кортизол	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 66,14 (49,46; 89,54)	0,940	0,219	0,035*

Продолжение таблицы 43

1	2	3	4	5
группа 4, гармина гидрохлорид	0,940	Me (Q25; Q75) 67,19 (43,57; 96,87)	0,406	0,112
группа 5, амитриптилин	0,219	0,406	Me (Q25; Q75) 45,93 (23,55; 84,65)	0,003*
ХНУС	0,035*	0,112	0,003*	Me (Q25; Q75) 128,3 (62,67; 135,9)
Примечание – * Статистически значимые различия если $p \leq 0,05$				

Таким образом, на основании полученных данных мы можем заключить, что хронический непредсказуемый умеренный стресс вызывает значительное повышение уровня кортизола в плазме крови крыс, отражая активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Статистические данные всех трех групп не демонстрируют достоверно отличных значений с исходными данными, однако абсолютные показатели могут быть использованы для последующего анализа с учетом активной динамики исходных показателей кортизола и показателей после формирования ХНУС. Фармакологическая терапия во всех группах приводит к снижению уровня кортизола, но в группе с использованием амитриптилина показатель абсолютных значений показывает результат ниже исходных показателей, что не обеспечивает полную нормализацию уровня кортизола до исходных значений, что указывает на устойчивое влияние хронического стресса на эндокринную систему, в условиях ранее рассмотренных процессов окислительного метаболизма в организме и нормализации функций гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси.

3.2.5 Оценка показателей окислительного метаболизма в мозге крыс

После декапитации животных после проведения терапии нами был проведен анализ изучаемых показателей и сравнение их с результатами, полученными после формирования модели ХНУС. Сравнение было проведено как с группой модели – группа 2, так и с группой 1, которая не подвергалась моделированию.

Полученные результаты были представлены диаграммами размаха, представленными на рисунках 67–70.

На рисунке 67 представлено сравнение КА групп терапии с показателями 1 группы, в которой не проводилось формирование модели ХНУС, но которая подвергалась забору крови и испытаниям в поведенческих тестах, что соответствовало периодическому острому стрессу.

В первой серии при завершении эксперимента выявлялись достоверные статистические отличия между двумя группами по показателям РКПБ и МДА, при этом расчеты не показали достоверных различий в уровне КА, но выявлялись при построении диаграммы размаха (см. пункт 3.1.5).

Согласно рисунку 63 выявляются более низкие показатели КА в группе 1 (Me (Q25; Q75) – 0.214 (0,200;0,222)) увеличение КА в группах терапии сопоставимая с группой 2 (Me (Q25; Q75) – 0.232 (0,222; 0,028)).

Согласно диаграмме, отмечается значительное увеличение КА во всех группах терапии, сравнительно с показателями 1 группы.

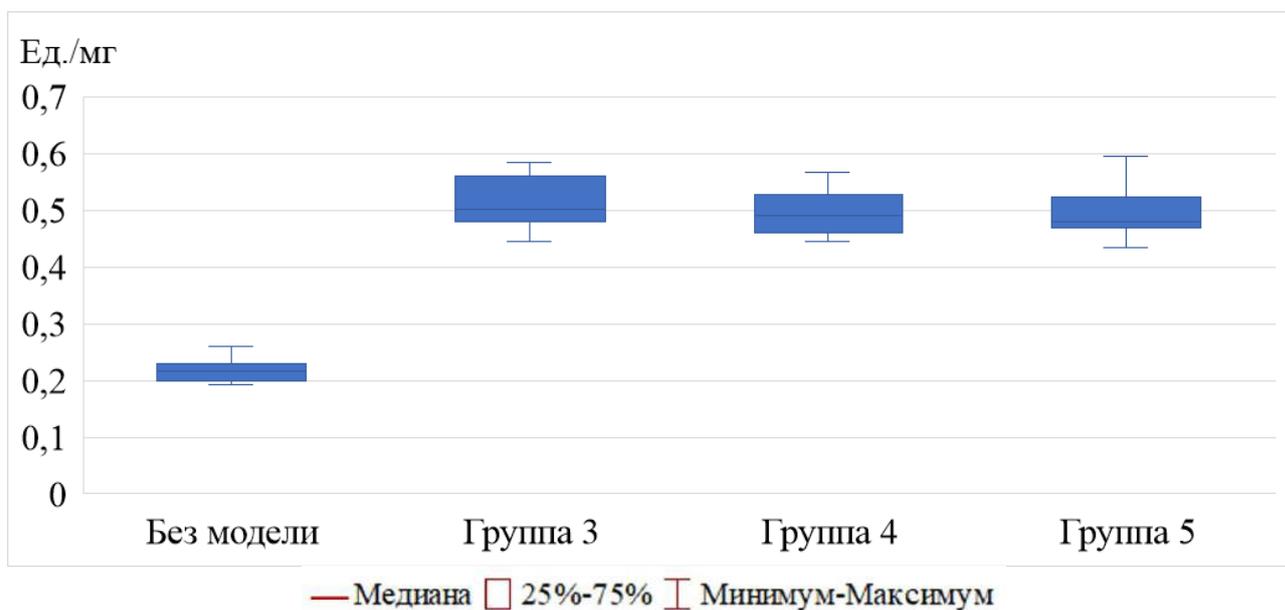


Рисунок 67 – Сравнительная характеристика КА в группе 1 (без модели ХНУС) и в трех группах терапии

Как представлено на рисунке 68, во всех группах терапии отмечается увеличение РКПБ, минимально выраженное в группе 4 и практически двукратное увеличение МДА во всех группах.

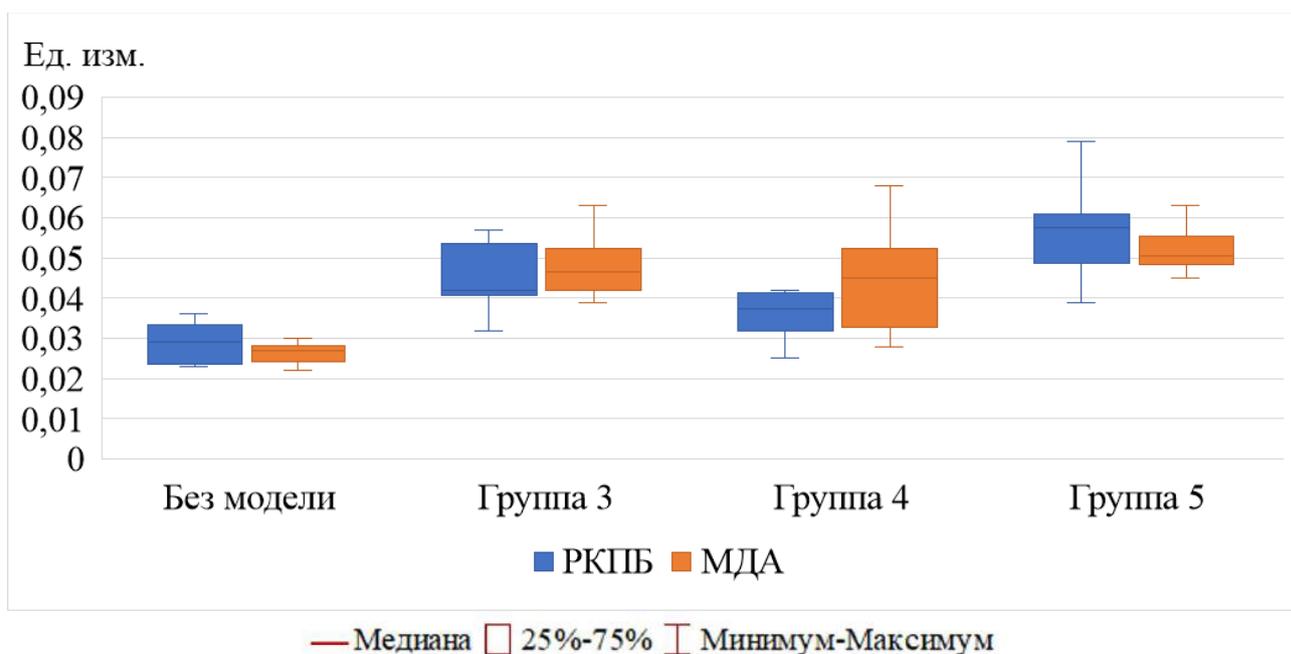


Рисунок 68 – Сравнительная характеристика РКПБ и МДА в группе 1 (без модели ХНУС) и в трех группах терапии

Таким образом можно заключить, что все виды терапии однонаправленно влияют на процессы окислительного метаболизма в головном мозге по изучаемым показателям, в том числе под воздействием периодических стрессорных эпизодов, при отсутствии хронического стресса. Для подтверждения предположений на основании диаграмм размаха далее будут проведены множественные сравнения в группах.

На рисунке 69 представлена диаграмма размаха, отражающая показатели трех групп терапии и группы 2 с моделью ХНУС. Показатели КА после лечения значительно повышаются во всех группах терапии с уменьшением плотности размаха и увеличением дисперсии.

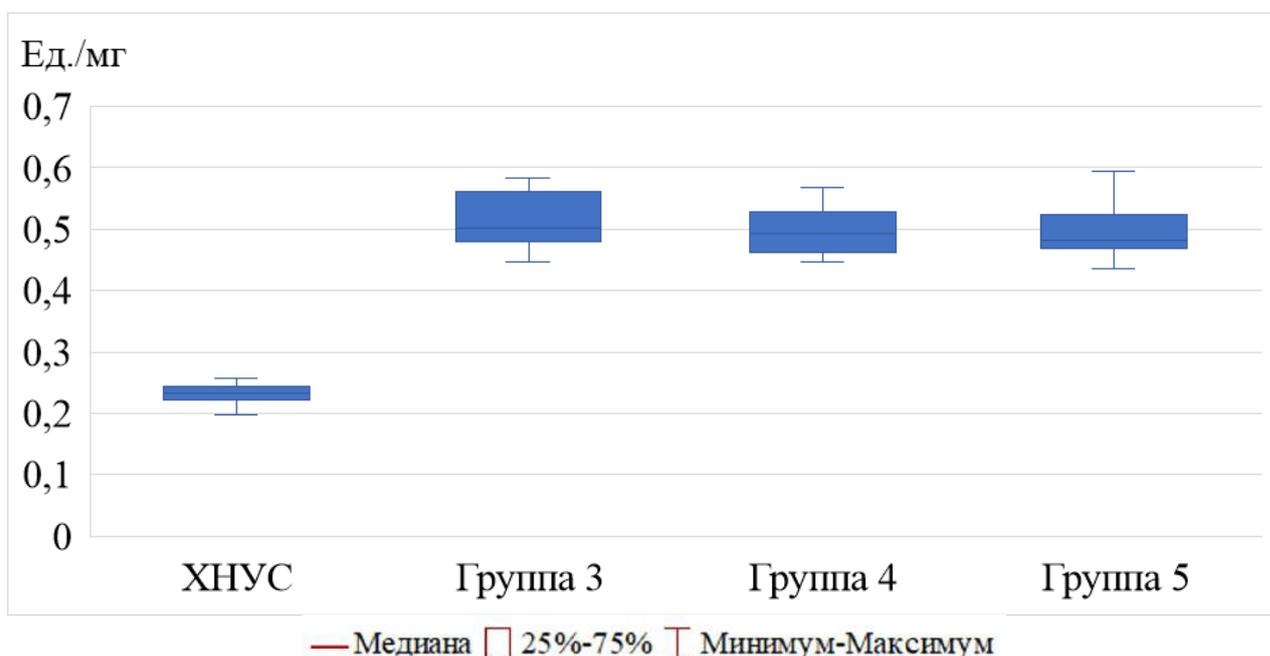


Рисунок 69 – Сравнительная характеристика показателей КА в группе 2 (с моделью ХНУС) и в трех группах терапии

Согласно диаграмме размаха на рисунке 70 значения РКПБ в группе 3 уменьшают плотность размаха, в группах 4 и 5 плотность размаха остается прежней, и уровень РКПБ снижается в 4 и 5 группе. При этом дисперсия в 5 группе расширяется в направлении снижения и повышения, что свидетельствует о неоднородности показателей.

Показатели МДА согласно диаграмме размаха уменьшаются во всех группах терапии с уменьшением плотности размаха. В группе 4 отмечается увеличение верхней границы дисперсии, нижняя граница дисперсии во всех группах терапии практически уравнивается с нижней границей размаха. Для получения достоверных отличий далее будут проведены множественные сравнения групп эксперимента.

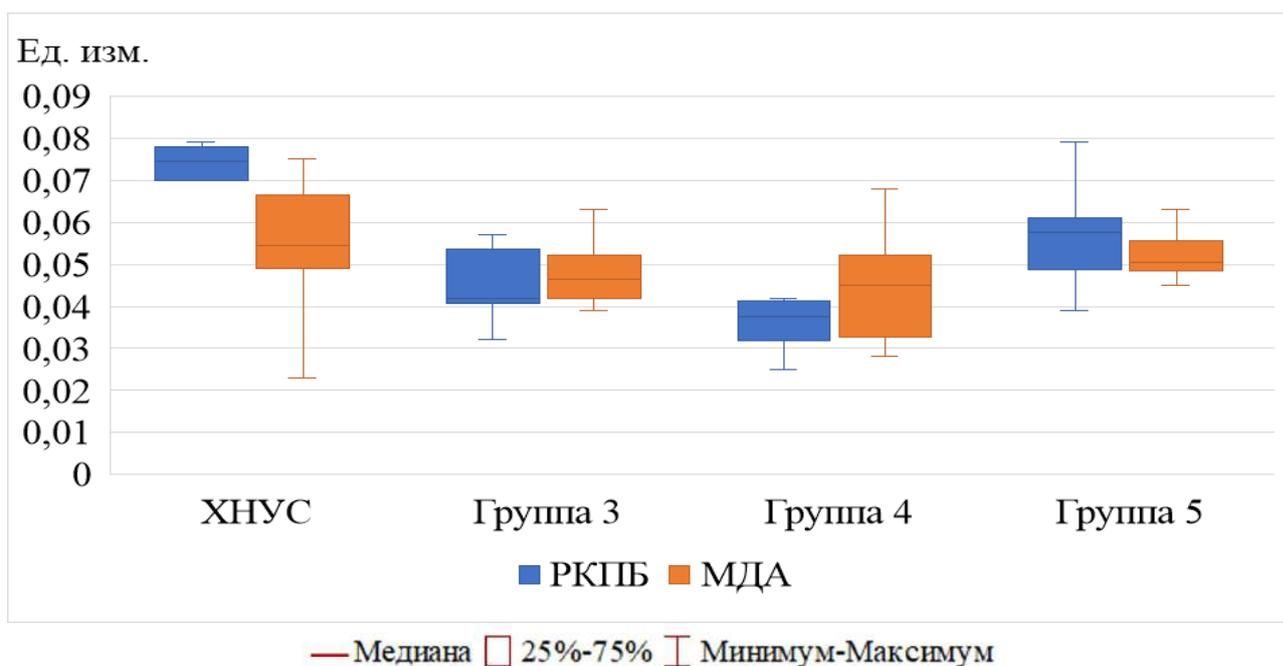


Рисунок 70 – Сравнительная характеристика РКПБ и МДА в группе ХНУС и в трех группах терапии

Множественные сравнения (р-уровни) показателей по завершению в трех группах терапии с показателями 1 серии эксперимента группы без модели ХНУС проведено с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса для уровня значимости $\alpha=0,05$. Результаты исследования и сравнения показателей представлены в таблице 44

По результатам множественных сравнений групп терапии с показателями группы без модели ХНУС, представленных в таблице 44, отмечаются статистически значимые различия при которых показатели КА в группе без модели ХНУС достоверно ниже показателей в группе 3 ($p=0,000$), группе 4 ($p=0,001$), группе 5 ($p=0,005$). Показатели РКПБ в группе без модели ХНУС достоверно ниже группы 3 ($p=0,007$), группы 5 ($p=0,000$). Достоверных различий с группой 4 не выявляется. Результаты расчетов МДА в мозге демонстрируют достоверно более низкие показатели в группе без модели ХНУС чем в группе 3 ($p=0,018$), группе 4 ($p=0,027$), группе 5 ($p=0,000$).

Таблица 44 – Множественные сравнения КА, РКПБ, МДА в мозге крыс групп терапии и мозге крыс без модели ХНУС

Н критерий Краскела-Уоллиса Н (3, N= 39) =20,87 p =0,000*				
КА	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	без модели ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,503 (0,492; 0,559)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,492 (0,462; 0,522)	1,000	0,001*

Продолжение таблицы 44

1	2	3	4	5
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 0,481 (0,476; 0,511)	0,005*
без модели ХНУС	0,000*	0,001*	0,005*	Me (Q25; Q75) 0,214 (0,200; 0,222)
Н критерий Краскела-Уоллиса Н (3, N= 39) =23,31 p =0,000*				
РКПБ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	без модели ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,042 (0,041; 0,053)	0,742	1,000	0,007*
группа 4, гармина гидрохлорид	0,742	Me (Q25; Q75) 0,037 (0,033; 0,041)	0,022*	0,488
группа 5, амитриптилин	1,000	0,022*	Me (Q25; Q75) 0,058 (0,052; 0,060)	0,000*
без модели ХНУС	0,007*	0,488	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,030 (0,025; 0,033)
Н критерий Краскела-Уоллиса Н (3, N= 39) =20,85 p =0,000*				
МДА	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	без модели ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,047 (0,043; 0,050)	1,000	0,728	0,018*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,045 (0,033; 0,048)	0,550	0,027*
группа 5, амитриптилин	0,728	0,550	Me (Q25; Q75) 0,051 (0,049; 0,053)	0,000*
без модели ХНУС	0,018*	0,027*	0,000*	Me (Q25; Q75) 0,028 (0,025; 0,028)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

Множественные сравнения (p-уровни) показателей по завершению в трех группах терапии с показателями с моделью ХНУС проведено с помощью Н Критерия Краскела Уоллиса для уровня значимости $\alpha=0,05$. Результаты исследования и сравнения показателей представлены в таблице 45.

Множественные сравнения изучаемых показателей в группах терапии и ХНУС представленные в таблице 45 демонстрируют достоверно более низкие показатели КА в модели ХНУС, сравнительно с группой 3 (p=0,000), группой 4 (p=0,001), группой 5 (p=0,003). Показатели РКПБ имеют более высокий уровень чем в группе ХНУС, что достоверно для группы 3 (p=0,021) и группы 4 (p=0,000). Достоверного различия ХНУС с группой 5 не выявляется, но отмечается достоверно более высокий уровень показателей в группе 5, чем в группе 4 (p=0,040). Анализ результатов изменения уровня МДА в группах терапии при сравнении с моделью ХНУС не выявляет статистически значимых отличий.

Таблица 45 – Множественные сравнения КА, РКПБ, МДА в мозге крыс в группах терапии и мозге крыс с моделью ХНУС

Н критерий Краскела-Уоллиса Н (3, N= 40) =22,55 p =0,000*				
КА	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,503 (0,492; 0,559)	1,000	1,000	0,000*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,492 (0,462; 0,522)	1,000	0,001*
группа 5, амитриптилин	1,000	1,000	Me (Q25; Q75) 0,481 (0,476; 0,511)	0,003*
ХНУС	0,000*	0,001*	0,003*	Me (Q25; Q75) 0,232 (0,222; 0,243)
Н критерий Краскела-Уоллиса Н (3, N= 40) =19,88 p =0,000*				
РКПБ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,042 (0,041; 0,053)	1,000	0,925	0,021*
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,037 (0,033; 0,041)	0,040*	0,000*
группа 5, амитриптилин	0,925	0,040*	Me (Q25; Q75) 0,058 (0,052; 0,060)	0,799
ХНУС	0,021*	0,000*	0,799	Me (Q25; Q75) 0,074 (0,050; 0,066)
Н критерий Краскела-Уоллиса Н (3, N= 40) =7,846 p =0,049*				
МДА	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин	ХНУС
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,047 (0,043; 0,050)	1,000	0,577	0,233
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,045 (0,033; 0,048)	0,398	0,151
группа 5, амитриптилин	0,577	0,398	Me (Q25; Q75) 0,051 (0,049; 0,053)	1,000
ХНУС	0,233	0,151	1,000	Me (Q25; Q75) 0,055 (0,050; 0,066)
Примечание – * Статистически значимые различия если p≤0,05				

Множественные сравнения (p-уровни) в группах терапии с использованием Н критерия Краскела-Уоллиса ($\alpha=0,05$). Результаты исследования приведены в таблице 46.

Результаты сравнения показателей, представленные в таблице 46 в группах терапии между собой, в случае КА и МДА не выявляют достоверных отличий. При анализе показателей РКПБ выявляется достоверно более высокий показатель в группе 5, превышающий показатель группы 4 ($p=0,002$).

Таблица 46 – Множественные сравнения КА, РКПБ, МДА в мозге крыс в группах терапии

Н критерий Краскела-Уоллиса Н (2, N= 30) =1,021 p =0,600			
КА	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,503 (0,492; 0,559)	1,000	0,947
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,492 (0,462; 0,522)	1,000
группа 5, амитриптилин	0,947	1,000	Me (Q25; Q75) 0,481 (0,476; 0,511)
Н критерий Краскела-Уоллиса Н (2, N= 30) =11,29 p =0,004			
РКПБ	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,042 (0,041; 0,053)	0,281	0,281
группа 4, гармина гидрохлорид	0,281	Me (Q25; Q75) 0,037 (0,033; 0,041)	0,002*
группа 5, амитриптилин	0,281	0,002*	Me (Q25; Q75) 0,058 (0,052; 0,060)
Н критерий Краскела-Уоллиса Н (2, N= 30) =5,258 p =0,072			
МДА	группа 3, плацебо	группа 4, гармина гидрохлорид	группа 5, амитриптилин
группа 3, плацебо	Me (Q25; Q75) 0,047 (0,043; 0,050)	1,000	0,202
группа 4, гармина гидрохлорид	1,000	Me (Q25; Q75) 0,045 (0,033; 0,048)	0,108
группа 5, амитриптилин	0,202	0,108	Me (Q25; Q75) 0,051 (0,049; 0,053)
Примечание – * - Статистически значимые различия если p≤0,05			

Проведенный сравнительный анализ динамики изменений изучаемых показателей в головном мозге при сравнении группы ХНУС и трех групп терапии, представлен на рисунке 71. Согласно полученным данным во всех группах отмечается увеличение КА – в группе 2 на 7,44%, в группе 3 на 121,42%, в группе 4 на 117,03%, в группе 5 на 114,91%. Уровень РКПБ при формировании модели ХНУС увеличивается на 146,35% и на фоне терапии снижается в группе 3 на 30,81%, в группе 4 на 40,24%, в группе 5 на 7,07%. Значение МДА при формировании модели ХНУС в группе 2 увеличивается на 112,83%, после, на фоне терапии снижается в группе 3 на 9,68%, в группе 4 на 3,63% и в группе 5 показатель увеличивается на 11,35%.

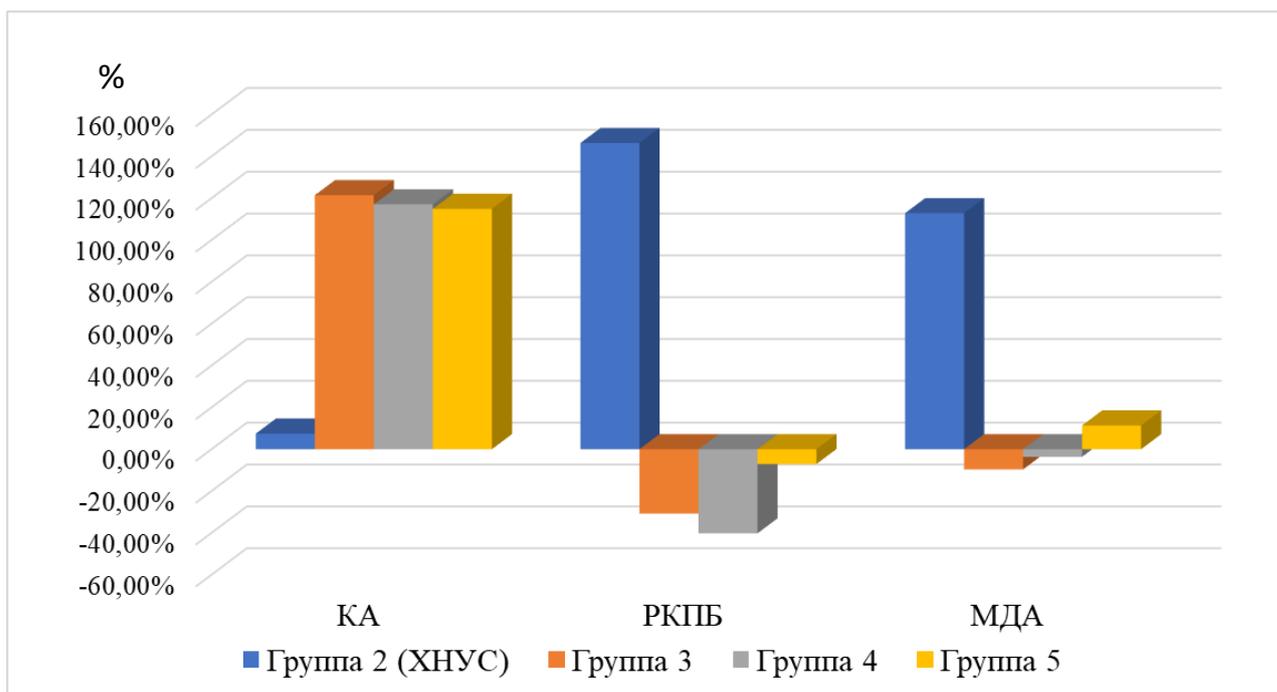


Рисунок 71 – Динамика КА, РКПБ, МДА в мозге крыс после формирования модели ХНУС во 2 группе и в группах после терапии

Таким образом, на основании полученных данных мы можем заключить, что хронический непредсказуемый умеренный стресс приводит к усилению окислительного стресса в тканях головного мозга, что подтверждается повышением уровней реактивных карбонильных производных белков и малонового диальдегида. Фармакологическая коррекция амитриптилином и гармина гидрохлоридом оказывает ограниченное воздействие на эти показатели, не приводя к их полной нормализации, что свидетельствует о сохранении окислительных нарушений в мозге на фоне терапии.

3.2.6 Оценка патоморфологических изменений в мозге крыс.

Морфологическая характеристика структурного состояния головного мозга при хроническом непредсказуемом умеренном стрессе после терапии препаратами плацебо, гармина гидрохлоридом, амитриптилином.

При гистологическом исследовании ткани головного мозга крыс 2 серии эксперимента после создания модели ХНУС, при терапии плацебо (третья группа) была отмечена однотипная картина патоморфологических изменений. Микроскопически выявлялось паретическое расширение сосудов мягкой мозговой оболочки, представленное на рисунке 72 а, отек и нарушение кровообращения на уровне сосудов микроциркуляторного русла в виде множественных капилляростазов, выявляемых на рисунке 72 б, периваскулярный и перицеллюлярный отек с формированием криблюр, вокруг зон ишемии отмечены активация клеток-сателлитов, явление нейрофагии и глиоза, отмечаемые на рисунке 72 в. При этом наблюдались дистрофические изменения нейроцитов, выявлялись «клетки-тени», границы клеток

просматривались с трудом, выражены явления кариопикноза, кариорексиса и кариолизиса, отмечаемые на рисунке 72 г. В стволовой части головного мозга также отмечаются явления глиоза как следствие ишемии. В разных участках головного мозга представленных на рисунке 72 д, е наблюдалось образование кистозных структур, как возможных исход очагов кровоизлияний и глиоза.

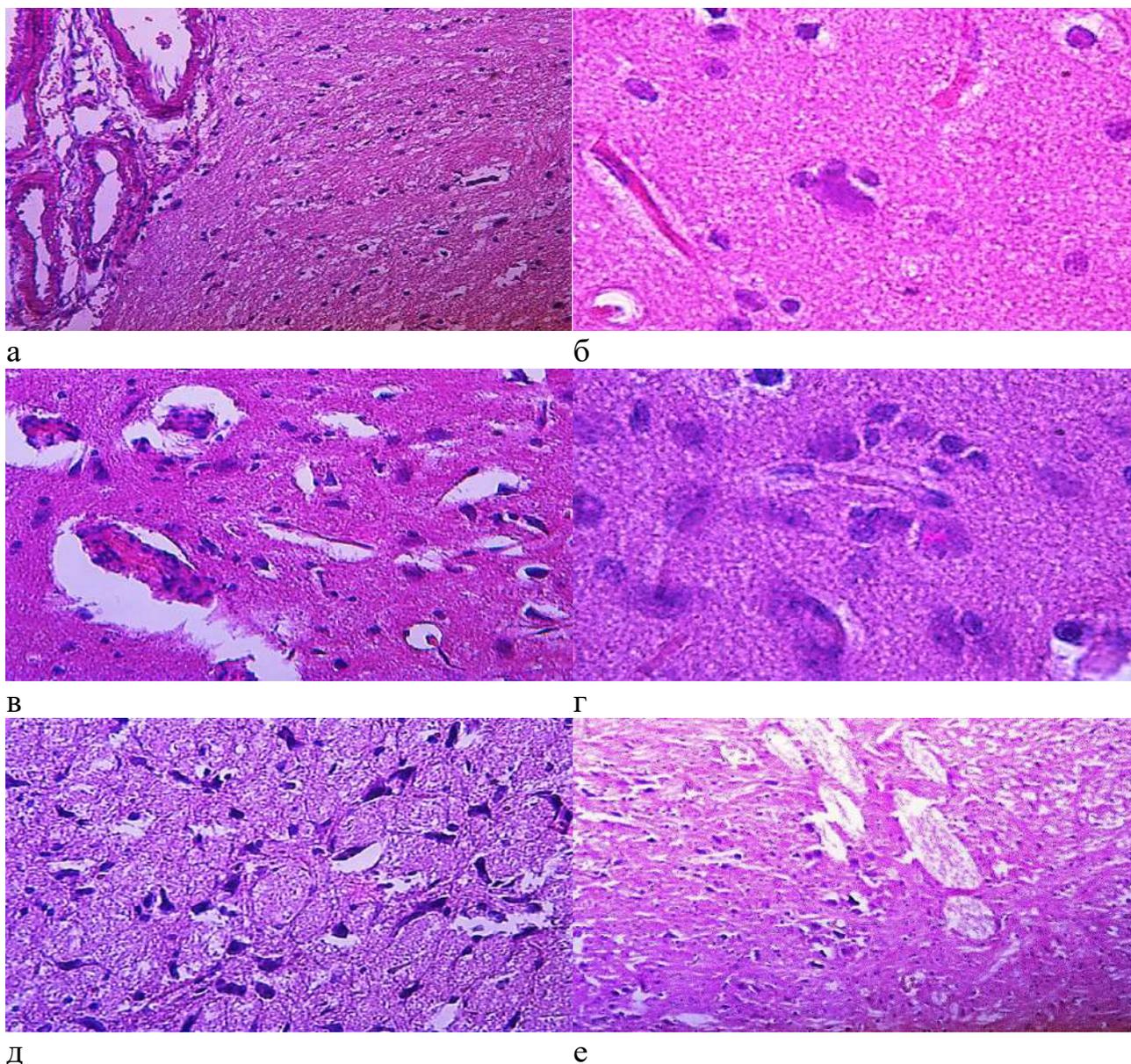


Рисунок 72 – Терапия плацебо, третья группа, 2 серия эксперимента. Головной мозг: паретическое расширение сосудов и отек мягкой мозговой оболочки (а); множественные капилляростазы (б); активация клеток-сателлитов, явление нейронафагии и глиоза (в); деструкция нейроцитов (г); глиоз ствола мозга (д); кистозные структуры вещества головного мозга (е). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.: а, е – X 200; б, в, д – X 400; г – X1000.

При гистологическом исследовании ткани головного мозга крыс четвертой группы 2 серии эксперимента при создании модели ХНУС, после терапии гармина гидрохлоридом отмечены выраженные нарушения кровообращения на

уровне сосудов микроциркуляторного русла, что характеризовалось полнокровием, обширными периваскулярными кровоизлияниями и капилляростазом, эритростазами, выявляются очаги энцефаломалации и порэнцефалии представленные на рисунке 73 а, б, в, г, вокруг наблюдается большие зоны глиоза отмечаемые на рисунке 73 д; дистрофические изменения нейроцитов с перичеллюлярным отеком выявлены на рисунке 73 е.

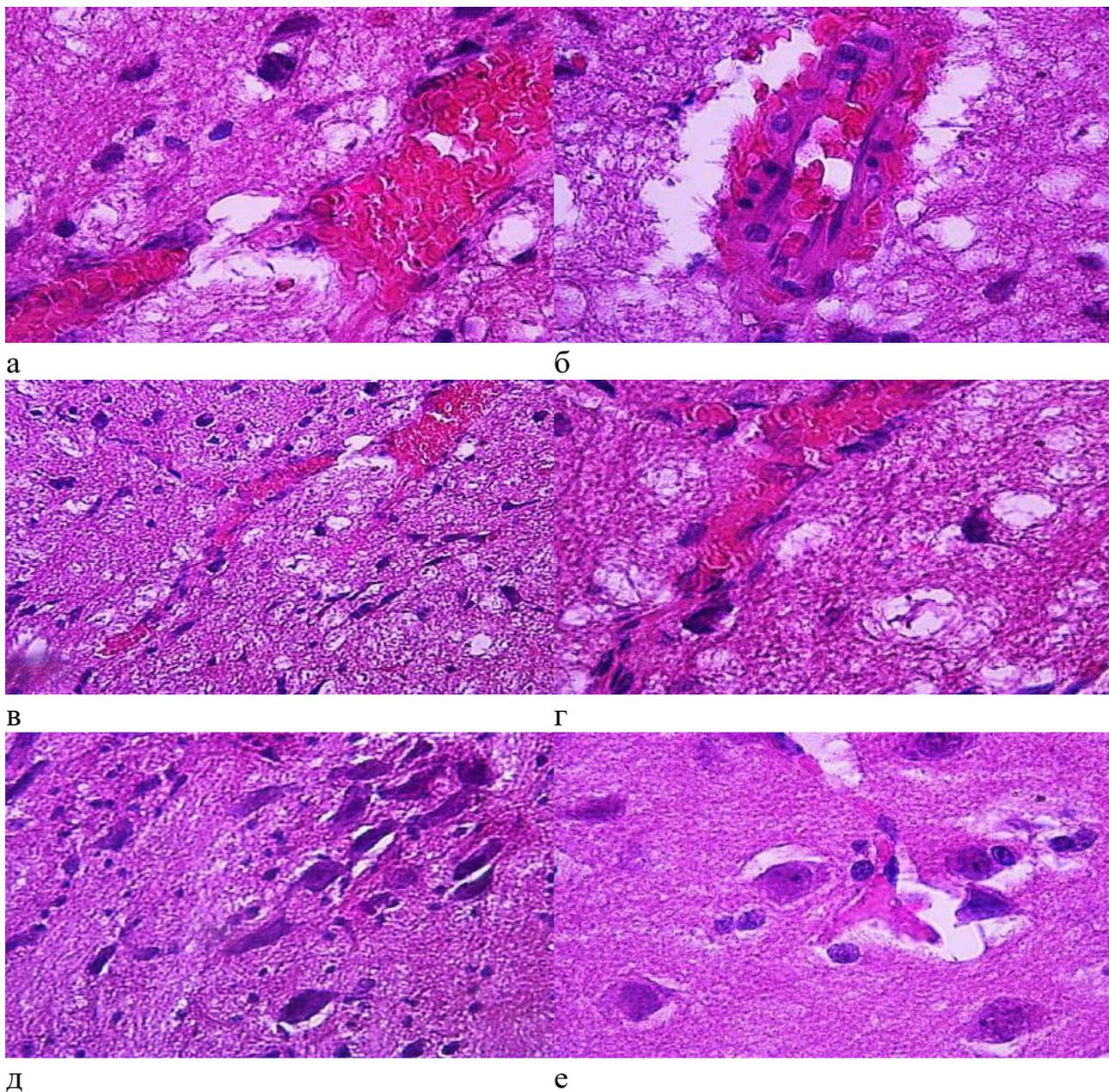


Рисунок 73 – Терапия гармина гидрохлоридом (четвертая группа), 2 серия эксперимента. Головной мозг: полнокровие, очаговые кровоизлияния, капилляростазы, эритростазы, очаги энцефаломалации и порэнцефалии (а, б, в, г); явление глиоза, перичеллюлярный отек (д, е). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.: в – X 200; а, б, г, д – X400; е – X1000 (иммерсионное масло).

При гистологическом исследовании ткани ствола головного мозга после терапии гармина гидрохлоридом (группа 4), во 2 серии эксперимента выявлена картина периваскулярного и перицеллюлярного отека, разрежение вещества мозга зафиксированное на рисунке 74 а, б; а также дистрофические изменения нейроцитов, обнаруживались «клетки-тени» отмечаемые на рисунке 74 в, г, которые четко выявляются при микроскопическом исследовании под иммерсионным маслом.

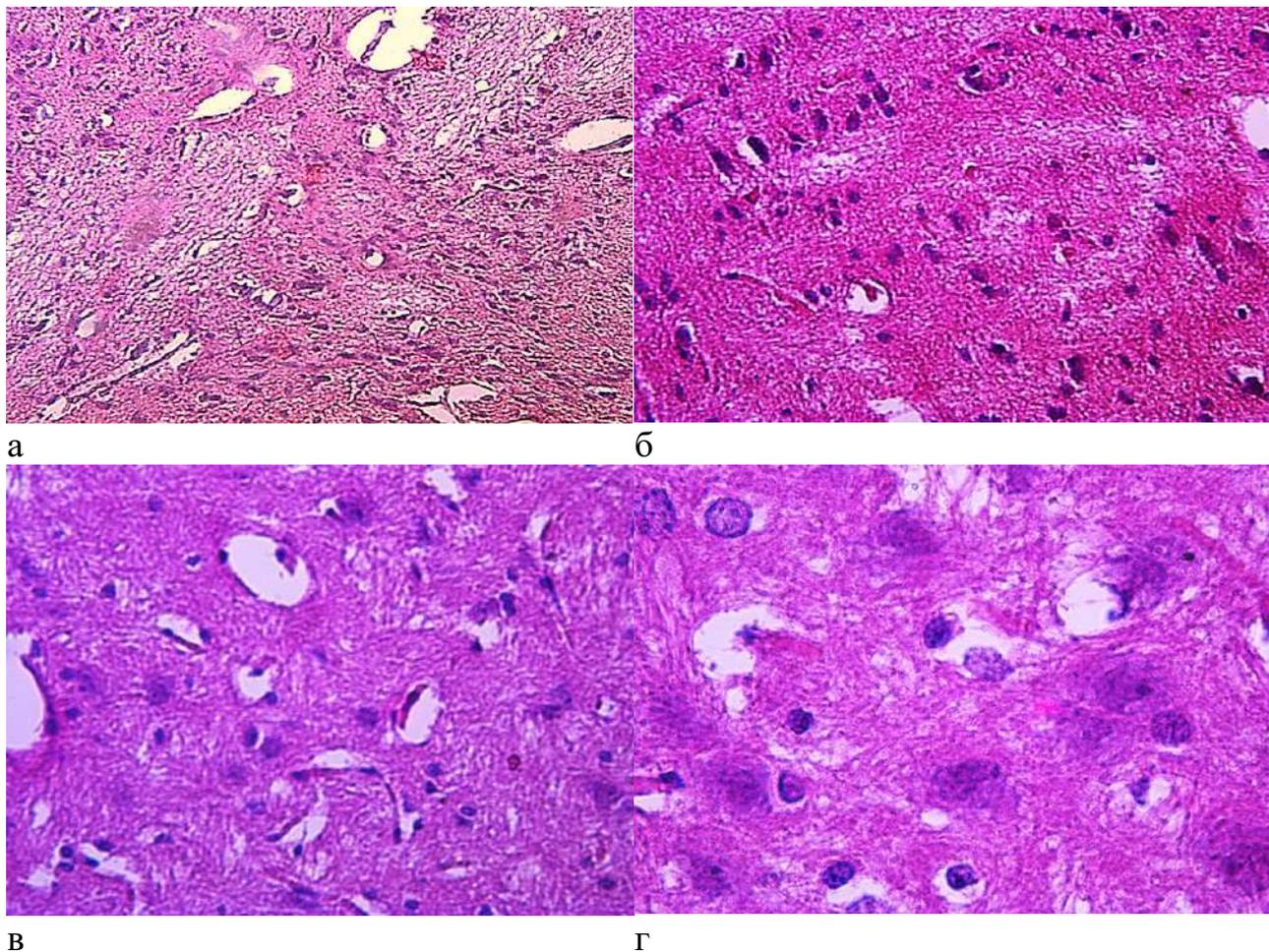
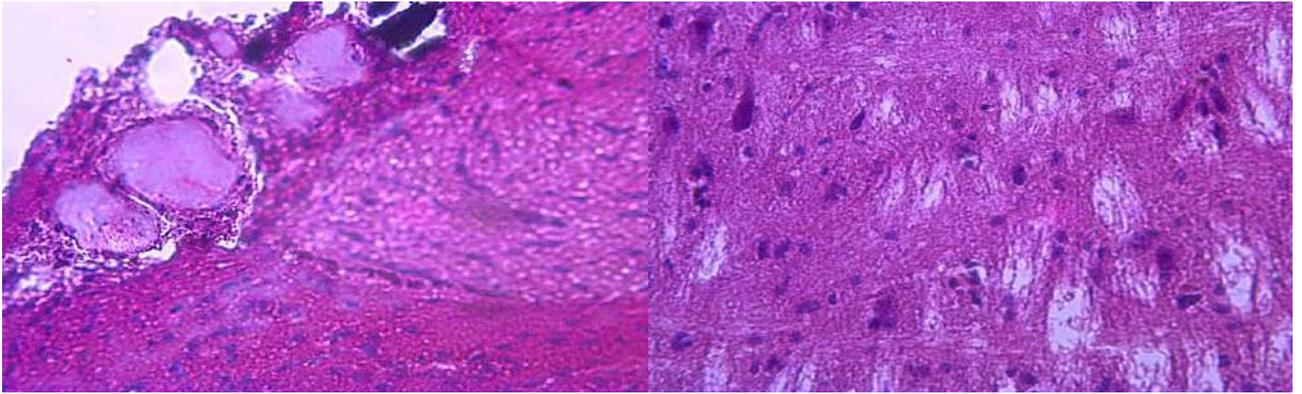


Рисунок 74 – Терапия гармина гидрохлоридом (четвертая группа), 2 серия эксперимента. Ствол головного мозга: периваскулярный и перицеллюлярный отек, разрежение вещества (а, б); дистрофические изменения нейроцитов, «клетки-тени» (в, г). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.: а, б – X 200; в – X400; г – X 1000. Иммерсионное масло.

При гистологическом исследовании ткани головного мозга после терапии amitriptylinom (пятая группа), 2 серия эксперимента установлено, что характер морфологических изменений был однотипным во всех наблюдениях этой группы. Гистологические изменения характеризовались наличием периваскулярного и перицеллюлярного отека, разрежением вещества мозга, отраженными на рисунке 75 а, б; а также дистрофическими изменениями нейроцитов, обнаруживались «клетки-тени».

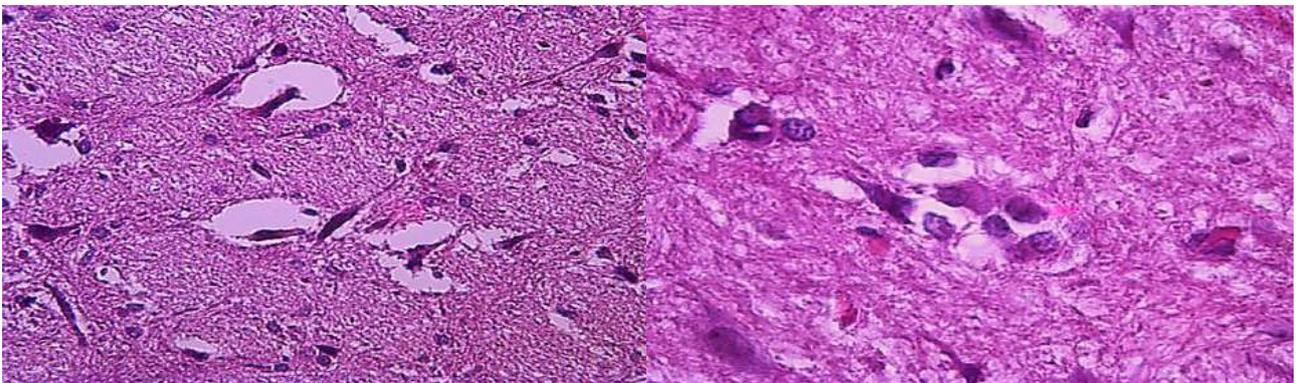


а

б

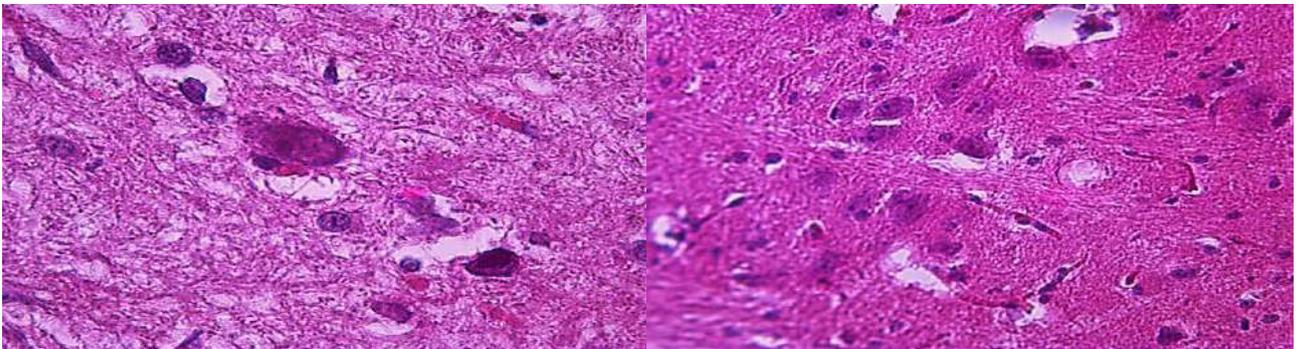
Рисунок 75 – Терапия amitриптилином (группа 5), 2 серия эксперимента. Остаточные очаги кровоизлияния в мягкую мозговую оболочку, полнокровие сосудов (а); очаги разрежения вещества мозга и явление глиоза (б). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. X 200.

При микроскопическом исследовании ткани стволовой части головного мозга после терапии amitриптилином (группа 5), 2-й серии эксперимента на рисунке 76 отмечен периваскулярный и перицеллюлярный отек, выявлены очаги явления глиоза.



а

б



в

г

Рисунок 76 – Терапия amitриптилином (пятая группа), 2 серия эксперимента. Ствол головного мозга: очаги периваскулярного, перицеллюлярного отека и глиоза. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. а – X 200; б, в, г – X 400.

По результатам гистологического исследования в трех группах терапии отмечается снижение выраженности признаков острого повреждения в веществе головного мозга, отмечавшегося в группе 2 после формирования модели ХНУС, что может быть объяснено как эффектом терапии, прекращением воздействия стресса, так и закономерными процессами репарации в период терапевтического воздействия. Однако, во всех группах отмечаются следовые изменения, характерные для очаговых поражений головного мозга глиозного характера, разрежение вещества мозга, формирования кистозных полостей как результата кровоизлияний. Ишемические очаги замещаются зонами обширного глиоза, клетки-тени, выявляющиеся во всех наблюдаемых группах терапии, характеризующие дегенерацию с потерей ядра, в том числе и пирамидных клеток.

Наиболее выраженными изменениями, вовлекающие систему кровоснабжения, характеризуются образцы группы терапии гармина гидрохлорида с сохраняющимися грубыми нарушениями кровообращения с полнокровием, обширными периваскулярными кровоизлияниями, капилляростазами и эритростазами. Также образцы этой группы характеризуются всеми перечисленными признаками выраженных нейродегенеративных процессов в веществе головного мозга крыс.

Группа плацебо, в свою очередь, имеет малую степень отличий от образцов после формирования ХНУС, в которых, однако, не выявляется признаков обширных кровоизлияний и очагов ишемии, но сохраняются изменения в микроциркуляторном русле и признаки выраженной нейродегенерации клеток и нейроглиальных структур головного мозга. Обращает на себя внимание значительное количество постишемических очагов глиоза со все еще сохраняющимися признаками периваскулярного и перицеллюлярного отека.

Характерными для группы amitriptilina являются признаки сохраняющегося перицеллюлярного и периваскулярного отека, дистрофические изменения клеток и отсутствие признаков активности повреждающих процессов микроциркуляторного русла. Отсутствуют свежие признаки ишемического либо геморрагического характера при сохранении явления заместительной глиозной репарации и разрежением вещества головного мозга.

Таким образом ни один вид терапии не позволяет достичь восстановления и стабилизации патологического процесса в веществе головного мозга, что неизменно будет оказывать влияние на его функционирование в течение неопределенных сроков. Полное восстановление повреждений не является целью терапии, но предполагает ремоделирование структур и функций за счет механизмов нейропластичности при условии прекращения влияния запущенных реакций повреждения мозговой ткани.

3.3 Концепция роли хронического стресса через изменения процессов окислительного метаболизма в развитии поведенческих расстройств и патологических процессов.

Основой развития поведенческих нарушений при хроническом стрессе является длительное восприятие дезадаптирующих стимулов структурами

головного мозга, ответственными за эмоциональный ответ на данные стимулы, обработку паттерна воздействующего стресса и мониторинг периперсонального пространства (безопасности). При этом стресс связан как с психосоциальными факторами, так и нейробиологическими. Однако именно морфофункциональный субстрат является структурной основой развития поведенческих нарушений.

Изменения, противоречащие здоровым функциям мозга, включают в себя депрессию, тревогу, нарушения памяти, социальное познание и тормозящий контроль. Перечисленные симптомы и множество других объясняются вовлечением в патологический процесс обширной сети мозга, включая и гиппокамп. Гиппокамп, наряду с супрамаргинальной извилиной имеет значительное количество рецепторов гормонов стресса, тем самым опосредуя адаптацию к стрессу с последующей ее дисфункцией в условиях хронического стрессового воздействия. При воздействии длительного стресса с развитием поведенческих нарушений отмечается низкий кластер внутрикорткального миелина в правой надмаргинальной извилине и других областях мозга, изменение связи лимбической системы с префронтальной корой, снижение нейрогенеза, уменьшение размеров гиппокампа, объема серого вещества в медиальной префронтальной коре и правой островковой коре. Островковая кора является субстратом когнитивных, гомеостатических и аффективных систем человеческого мозга, а также восприятия и переживания эмоций. Отмечаются изменения в парагиппокампальной извилине с двух сторон и правом миндалевидном теле, связанными с начальным восприятием стресса и ожиданием негативных событий со снижением плотности серого вещества в правом миндалевидном теле, снижение объема белого вещества мозолистого тела, снижение объема серого вещества в парагиппокампе, веретеновидной и энториальной коре. Вовлечение надмаргинальной извилины запускает механизмы защитных реакций и дискомфорта, являясь ключевой областью мозга, активируемой при физиологическом стрессе, как область контролирующая периперсональное пространство. При этом воздействие хронического стресса способствует утрате ГАМК-ергического контроля миндалевидным телом, снижая устойчивость организма к различным стрессорам. Длительный стресс приводит к нейрональным и синаптическим изменениям, в числе которых: снижение экспрессии молекулы адгезии нервных клеток в ядрах миндалевидного тела, снижение разветвленности дендритов и плотности шипов; снижение экспрессии мозгового нейротрофического фактора и механистической мишени рапамицина с последующей атрофией рецепторов в областях, опосредующих депрессию.

Хронический стресс способствует нарушению механизма отрицательной обратной связи с гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой осью через снижение ее чувствительности, приводя опосредованно к дисфункции иммунной системы, нарушению обменных процессов, расстройствам настроения и поведения с развитием нейровоспаления в центральной и периферической нервной системе. Данный механизм является лишь частью сложной системы реагирования на хроническое стрессовое воздействие. Изменения, вызванные хроническим стрессом, могут длительное время сохраняться и после его

прекращения, что обусловлено структурно функциональными механизмами церебральных связей, ответственных за обработку эмоциональной стимуляции – прямой реакции на стресс. Активация симпато-адреналово-медуллярной оси в условиях хронического стресса подавляют иммунную функцию, поддерживая нейровоспаление за счет активации микроглии, являющейся источником провоспалительных цитокинов.

Активация процессов окислительного метаболизма является прямым следствием реакции на хроническое стрессовое воздействие и патохимические, морфологические, физиологические изменения в головном мозге, формируя пролонгированное самоподдерживающееся поведенческое расстройство адаптации, опосредующее различные типы поведенческих реакций депрессии, тревоги, нарушения поведения, эмоций и другими преобладающими симптомами [389]. Как известно, процессы окислительного метаболизма, являющиеся локальными либо системными, в итоге, затрагивают все процессы организма, ввиду тесного структурно-функционального взаимодействия органов и систем и вовлеченности в процессы окислительного метаболизма всего организма. При этом повреждение структур нервной системы, связь между которыми в условиях стресса описана выше, усугубляет течение процессов окислительного стресса и формирует «порочный круг» сомоподдерживающегося механизма дегенеративных процессов всех систем жизнеобеспечения, усугубляя поведенческое расстройство уже за счет органического повреждения структур головного мозга. Таким образом рассматривать развитие окислительного стресса как самостоятельное явление, вследствие реакции на хронический стресс недопустимо, ввиду вовлеченности значительного количества систем реагирования на хронический стресс [390]. Тем не менее проводимое в настоящее время значительное количество исследований рассматривает процессы сопровождающие расстройства поведения по различным направлениям, избегая исследования процессов изменения окислительного метаболизма в крови в совокупности с поведенческими изменениями, реакцией ГН оси, биохимическими и морфологическими повреждениями головного мозга, что было проведено в нашей работе. Использование системного подхода в исследовании и введение в него фармакотерапевтического раздела позволило убедиться, что хронический стресс не ограничивается расстройствами поведения либо однокомпонентной реакцией, а является тяжелым затяжным процессом, требующим его более углубленного изучения, понимания и выбора верной терапевтической стратегии, применительно к человеческой популяции.

Необходимо отметить, что при прекращении хронического стресса через определенное, хотя и длительное время, развитие расстройства может носить двунаправленный характер, как в сторону усугубления тяжести процесса, так и самовосстановления, когда происходит запуск системы репарации во многих областях вовлеченных в поведенческое расстройство, таких как выработка белка постсинаптической плотности 95, синаптофизина в миндалевидном теле, увеличение экспрессии мозгового нейротрофического фактора и активация роста дендритов, что клинически может проявляться тревогой за счет активации нейрональной передачи и синаптогенеза, зависящих от значительного

количества условий общего состояния организма и психологических эндогенных и экзогенных факторов.

Таким образом, на основании полученных данных мы можем заключить, что хронический непредсказуемый умеренный стресс, вызывая в том числе и нарушения окислительного метаболизма, играет ключевую роль в развитии поведенческих расстройств и патологических изменений в головном мозге. Усиление окислительного стресса приводит к повреждению нейронов и нарушению их функциональной активности, что способствует формированию тревожно-депрессивных состояний и других поведенческих аномалий.

3.4 Концепция терапии поведенческих расстройств.

Рассмотрение терапии поведенческих расстройств наиболее актуальным и значимым является в условиях человеческой популяции, на основании имеющихся данных о расстройствах поведения по типу дезадаптации. Как ранее было рассмотрено в литературном обзоре, влияние хронического стресса не ограничивается поведенческими расстройствами, как и терапия не ограничивается фармакологическими методами.

Несмотря на высокую валидность использованной в эксперименте модели, поведенческие стресс-индуцированные расстройства у человека связаны с его когнитивными функциями, нарушение которых также входит в структуру депрессии. В основе концепции терапии человека включен тесный контакт психотерапевтической направленности со специалистом в поведенческих расстройствах. Разработано и применяется значительное количество методов психотерапии, релаксации, медитации и других типов психокоррекции. Высокое значение имеет физическая активность, системное оздоровление и методы положительной стимуляции. Основным фактором является разрыв патологического паттерна закрепления поведенческого расстройства, основанного на прекращении хронического стрессорного воздействия. Однако значение фармакотерапии является одним из основополагающих механизмов коррекции уже сформированного стрессового расстройства, где подбор препаратов является добровольным и согласованным с пациентом, что сложно достичь в экспериментальной модели.

Длительность терапии, избранная в нашем исследовании, является минимально рекомендованной, однако по мнению специалистов, у человека нормализация поведенческих реакций является лишь отправной точкой терапии длительность которой должна преобладать над длительностью течения поведенческого расстройства. Однако, в условиях нашего эксперимента длительность терапии на этапе планирования являлась допустимой, ввиду того что 21 день воздействия стресса предполагал формирование поведенческого расстройства к завершению этого срока. Таким образом нами были получены данные и влияния стресса на момент формирования расстройства и последовавшей за ним фармакологической коррекции.

В условиях экспериментальной модели ХНУС терапия поведенческих расстройств, характеризующаяся значительными повреждениями головного мозга, выраженными биохимическими нарушениями может рассматриваться в

достаточно ограниченном аспекте, без учета индивидуализированной реакции на стресс, внутренней картины болезни и других показателей свойственной человеческой популяции [391]. В условиях эксперимента доступно прекращение воздействия стрессового фактора различной модальности, улучшения условий содержания животных, введения системы поощрения, поддержания инстинктивных паттернов животных, активизация животных с увеличением пространства их содержания, применение стимулов, направленных на активацию половой доминанты к размножению. Как показали результаты нашего исследования, имеет смысл пролонгирование терапевтического воздействия и верный выбор препаратов воздействия, направленных на преобладающие симптомы расстройства. Значительную роль играет поддержание здорового состояния микробиоты кишечника и предотвращения либо терапии сопутствующих заболеваний. Дополнительное значение играет введение в рацион и схемы терапии не только препаратов направленных на устранение поведенческих расстройств психотропного ряда, но и веществ с характеристиками антиоксидантной защиты, что подразумевает комплексный подход к терапии.

Таким образом, на основании полученных данных мы можем заключить, что фармакологическая терапия с использованием амитриптилина и гармина гидрохлорида способствует снижению депрессивных проявлений у крыс с моделью хронического стресса. Однако терапия не обеспечивает полного восстановления биохимических и морфологических показателей головного мозга, что указывает на необходимость комплексного подхода к лечению стресс-индуцированных поведенческих расстройств, включающего коррекцию как поведенческих симптомов, так и метаболических и структурных нарушений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование было направлено на выявление изменений при формировании модели хронического непредсказуемого умеренного стресса и развитии стресс-индуцированных расстройств на основании показателей поведенческих тестов [392], биохимических изменений в крови [390] и головном мозге крыс [393], патоморфологической картине структур головного мозга как при формировании модели, так и после проведения фармакологической коррекции у крыс с моделью ХНУС.

Целью исследования являлась оценка молекулярно-клеточных изменений при индуцированных умеренным хроническим стрессом расстройствах, до и после фармакологической коррекции в экспериментальной модели хронического непредсказуемого умеренного стресса

Проведенное исследование подтвердило значительное влияние хронического непредсказуемого умеренного стресса (ХНУС) на ряд поведенческих, биохимических и структурных характеристик у лабораторных животных. Результаты демонстрируют, что модель ХНУС воспроизводит типичные признаки стресс-индуцированных расстройств, включая изменения в поведении, окислительном метаболизме и структуре головного мозга, что

подчеркивает её пригодность для моделирования хронического стресса и его последствий

Нами было выявлено, что хронический стресс вызвал выраженные изменения в поведении крыс, что проявлялось в повышенной тревожности и сниженной мотивации к получению поощрения, указывающей на ангедонию — один из признаков депрессивного состояния. В тестах на поведенческую оценку наблюдалось увеличение времени, проведенного в закрытых рукавах (признак тревожности), снижение активности и числа пересечений в открытом поле. Эти изменения отражают дезадаптивные реакции на стресс и свидетельствуют о нарушении эмоциональной регуляции, характерной для хронического стресса.

Результаты биохимических исследований показали значительные изменения в метаболизме крови и тканей головного мозга. В частности, выявлены повышение уровня кортизола в плазме и активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, что подтверждает устойчивую стрессовую реакцию организма [394]. Помимо этого, отмечены изменения окислительного метаболизма, включая повышение уровней реактивных карбонильных производных белка и малонового диальдегида в эритроцитах и плазме, что свидетельствует об усилении процессов окислительного стресса [395]. Эти биохимические изменения указывают на повреждение мембранных и белковых структур, вызванное накоплением реактивных кислородных форм, что является ключевым фактором в повреждении клеток и тканей [390].

Анализ результатов морфологического исследования ткани головного мозга животных с моделью хронического стресса выявил стойкие повреждения нейронов и структурные изменения, включая периваскулярные кровоизлияния, зоны глиоза и значительные деструктивные изменения нейронов. Эти изменения указывают на ухудшение микроциркуляции, нарушение нейрональных связей и признаки нейродегенерации. Такие повреждения являются следствием устойчивого окислительного стресса и активации воспалительных процессов в головном мозге [393].

Применение amitriptilina и гармина гидрохлорида продемонстрировало частичное улучшение поведенческих показателей и снижение депрессивных проявлений, что свидетельствует об их антидепрессивном действии. Однако полное восстановление биохимических и структурных показателей не было достигнуто. Уровень кортизола в плазме снизился, но не достиг нормальных значений [394]. Показатели окислительного стресса и пуринового обмена также оставались измененными, несмотря на терапию. Эти данные говорят о том, что хотя терапия оказывает положительное воздействие на поведенческие аспекты, она не устраняет метаболические и морфологические последствия хронического стресса.

На основании полученных результатов мы можем предположить, что хронический стресс приводит к устойчивой активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, что вызывает повышенную секрецию кортизола и других гормонов стресса. Эти изменения ведут к активации окислительных процессов, которые нарушают метаболический баланс и запускают каскад повреждений в тканях.

Формирование хронического стресса сопровождается накоплением реактивных кислородных форм, что приводит к повреждению белков, липидов и ДНК в клетках головного мозга и крови. Повышенный уровень реактивных карбонильных соединений и малонового диальдегида в мозге и крови подтверждает активацию окислительного стресса. Повреждение мембран и других клеточных структур вызывает дальнейшие нейродегенеративные изменения, которые усугубляют поведенческие расстройства.

Амитриптилин и гармина гидрохлорид оказывают антидепрессивное действие, что выражается в снижении депрессивного поведения и улучшении некоторых биохимических показателей. Однако терапия не может полностью устранить метаболические и структурные нарушения, вызванные хроническим стрессом, так как не способна полностью нейтрализовать окислительный стресс и устранить уже имеющиеся повреждения в головном мозге.

Таким образом, хронический непредсказуемый умеренный стресс оказывает многокомпонентное воздействие на организм, приводя к устойчивым поведенческим, биохимическим и структурным изменениям. Фармакологическая коррекция частично корректирует поведенческие нарушения, но не решает проблему стойких биохимических и морфологических изменений, что требует дальнейшего поиска комбинированных терапевтических стратегий, включающих антиоксидантные и нейропротекторные средства для полноценной коррекции последствий хронического стресса.

В целом, проведенное нами исследование подчеркивает необходимость комплексного подхода к лечению стресс-индуцированных расстройств, ориентированного на восстановление как эмоционального состояния, так и метаболического и структурного гомеостаза организма.

Выводы

В ходе проведенного анализа все исследовательские гипотезы были подтверждены. Цель и задачи диссертационной работы также были выполнены полностью. На основе проведенного количественного и качественного анализа можно сделать следующие выводы:

Вывод 1

Разработанная модель хронического непредсказуемого умеренного стресса (ХНУС) характеризуется и формированием депрессивного и тревожного характера поведения, который демонстрируется изменением поведенческих реакций: в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» снижение показателей ДПСР, на 100% ($p=0,025$), КПСР на 100% ($p=0,043$), стоек на 100% ($p=0,018$), количества уринаций ($p=0,008$) и дефекаций ($p=0,021$) на 100 %, и увеличение ДПТР на 32% ($p=0,013$), в тесте «Открытое поле» отмечалось снижение КГП на 61,12% ($p=0,005$) и снижение ВДА на 70% ($p=0,007$), в тесте «Предпочтение сахарозы» снижением потребления сахарозы на 61% (абсолютный расчет) и общего количества жидкости на 15% (абсолютный расчет).

Вывод 2

При формировании хронического непредсказуемого умеренного стресса повышается уровень кортизола на 156% ($p=0,016$) и развиваются стойкие

разнонаправленные изменения окислительного метаболизма в крови и тканях головного мозга экспериментальных животных, которые демонстрируются увеличением содержания РКПБ в эритроцитах на 69% ($p=0,059$), метилглиоксаля в эритроцитах на 23,09% ($p=0,009$), при одновременном снижении уровня МДА в плазме на 10,05% ($p=0,009$), увеличение мочевой кислоты в эритроцитах на 82,79% ($p=0,013$) и плазме крови на 56,96% ($p=0,028$), а также повышением уровня РКПБ и МДА в тканях головного мозга на 146% ($p=0,001$) и 96% ($p=0,002$) соответственно.

Вывод 3

Воздействие хронического стресса приводит к выраженным грубым структурным повреждениям головного мозга, характеризующимся обширными периваскулярными и перицеллюлярными кровоизлияниями, зонами глиоза и значительными деструктивными изменениями нейронов. В 80% наблюдений формируются эритроцитарные тромбы, выраженный перицеллюлярный отек и системные ишемические поражения, развитие энцефаломалации и порэнцефалии.

Вывод 4

Фармакотерапия, в малой степени способствует снижению депрессивного поведения, и демонстрирует в группе гармина гидрохлорида, в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» достижение исходного уровня ДПСР ($p=0,000$), снижение ДПТР на 6 % ($p=0,001$), увеличение свешиваний ($p=0,020$) при сохранении ДПЦ на уровне ХНУС. В тесте «Открытое поле» количество уринаций увеличивается в группе гармина гидрохлорида ($p=0,017$), снижаются показатели теста «Подвешивание за хвост» во всех группах терапии. Сумма результатов тестов свидетельствует об эффекте высокого уровня тревожности при терапии гармина гидрохлоридом и amitриптилином относительно исходного уровня по ДПЦ на 74,5% ($p=0,458$) и 76,5% ($p=0,103$) соответственно, как и по другим показателям, что демонстрирует расторможенность поведения в группе гармина гидрохлорида. Стойкое сопоставимое повышение потребления сахарозы демонстрирует снижение депрессивной настроенности животных всех групп терапии.

Вывод 5

На фоне применения amitриптилина и гармина гидрохлорида продолжается усугубление процессов оксидантного стресса в крови и тканях головного мозга животных с моделью хронического непредсказуемого стресса, которое выражается в повышении содержания реактивных карбонильных производных белка в плазме на 430,88% ($p=0,000$) и на 449,8% ($p=0,000$) соответственно, малонового диальдегида в эритроцитах на 51,79% ($p=0,001$) и на 50,66% ($p=0,025$), и плазме на 59,3% ($p=0,000$) и на 29,72% ($p=0,073$) при формировании тенденции к снижению уровня кортизола в крови на 64,9% ($p=0,003$) и 47,6% ($p=0,112$) соответственно.

Вывод 6

Применение amitриптилина и гармина гидрохлорида не способствует уменьшению структурных изменений головного мозга животных с моделью хронического непредсказуемого стресса, а процесс формирования свежих

очагов повреждения, к завершению периода терапии, ограничился лишь в группе амитриптилина.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Gao X., Kim S., Zhao T. et al. Social defeat stress induces myocardial injury by modulating inflammatory factors // *Journal of International Medical Research*. – 2020. – Vol 48, №7 – Article 300060520936903. – P. 1-14.
- 2 Бритов А.Н., Елисеева Н.А., Деев А.Д. и др. Влияние психологических факторов интегральную характеристику здоровья // *Клиническая медицина*. – 2015. – Том 93, №1. – С.56-62.
- 3 Borrow A.P., Stover S.A., Bales N.J. et al. Posterior Pituitary Hormones // *Hormonal Signaling in Biology and Medicine*. – 2020. – Chapter 10. – P. 203–226.
- 4 Анисимов Н.В., Ивашечкина Е.А. Стресс-факторы в социокультурном пространстве современного мегаполиса // *Молодой ученый*. — 2015. — Том 11, № 91. — С. 1840-1842.
- 5 Овчар Н.А. Влияние элементов информационного пространства на социальное самочувствие населения // *Известия ВолГТУ. Проблемы социально-гуманитарного знания* – 2015. – № 9. – С. 39 – 46.
- 6, Клиника и персонализированная диагностика расстройств невротического уровня в практике пограничной психиатрии: методические рекомендации / А.В. Васильева и др. – СПб.: Изд-во НМИЦ ПН им. В.М. Бехтерева, 2018. – 49 с.
- 7 International Classification of Diseases Eleventh Revision (ICD-11). Geneva: World Health Organization; 2022. License: CC BY-ND 3.0 IGO. – URL: <https://icd.who.int/browse/2024-01/mms/en> (дата обращения 14.01.2022)
- 8 Nagaraja A.S., Sadaoui N.C., Dorniak P.L., Lutgendorf S.K., Sood A.K. (2016). SnapShot: Stress and Disease // *Cell metabolism*. – 2016. – Vol. 23, № 2. – P. 388–388.e1.
- 9 Smagulova F. L'héritage épigénétique multigénérationnel chez l'Homme: le passé, le présent et les perspectives [Multigenerational epigenetic inheritance in human: the past, present and perspectives] // *Biologie aujourd'hui*. – 2023. – Vol. 217, № 3-4. – P. 233–243.
- 10 Гуцол Л.О., Гузовская Е.В., Серебренникова С.Н. и др. Стресс (общий адаптационный синдром): лекция // *Байкальский медицинский журнал*. – 2022. – Том 1, № 1. – С. 70-80.
- 11 Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine // *Redox biology*. – 2015. – Vol.4. – P.180-183.
- 12 Беялов Ф.И. Депрессия, тревога, стресс и смертность // *Терапевтический архив* – 2016. – Том 12. – С. 116 – 119.
- 13 Степанов И.Л., Моисейчева О.В. Психопатологические и динамические особенности фазнопротекающих депрессий и их связь с соматическими заболеваниями в анамнезе // *Социальная и клиническая психиатрия*. – 2015. – Т. 25, № 3. – С. 48 – 55.
- 14 Kasai H., Ziv N.E., Okazaki H. et al. Spine dynamics in the brain, mental disorders and artificial neural networks // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2021. – Vol. 22. – P. 407–422.

15 Koolhaas J.M., de Boer S.F., Buwalda B. et al. Social stress models in rodents: Towards enhanced validity // *Neurobiology of Stress*. – 2017. – Vol. 6. – P. 104-112.

16 Deshwal S., Di Sante M., Di Lisa F. et al. Emerging role of monoamine oxidase as a therapeutic target for cardiovascular disease // *Current opinion in pharmacology*. – 2017. – Vol. 33. – P. 64-69.

17 Reyes-Lizaola S., Luna-Zarate U., Tendilla-Beltrán H. et al. Structural and biochemical alterations in dendritic spines as key mechanisms for severe mental illnesses // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. – 2024. – Vol.129. – Article 110876.

18 Apam-Castillejos D.J., Tendilla-Beltrán H., Vázquez-Roque R.A. et al. Second-generation antipsychotic olanzapine attenuates behavioral and prefrontal cortex synaptic plasticity deficits in a neurodevelopmental schizophrenia-related rat model // *Journal of chemical neuroanatomy*. – 2022. – Vol. 125 – Article 102166.

19 Mandal P.K., Gaur S., Roy R.G. et al. Schizophrenia, Bipolar and Major Depressive Disorders: Overview of Clinical Features, Neurotransmitter Alterations, Pharmacological Interventions, and Impact of Oxidative Stress in the Disease Process // *ACS chemical neuroscience*. – 2022. – Vol.13, № 19. – P.2784-2802.

20 Nandi A., Yan L.J., Jana C.K. et al. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2019. – Article 9613090. – P. 1-19.

21 Kotzaeroglou A, Tsamesidis I. The Role of Equilibrium between Free Radicals and Antioxidants in Depression and Bipolar Disorder // *Medicines (Basel)*. – 2022. – Vol. 9, № 11. – Article 57. – P. 1-15.

22 Kattoor A.J., Pothineni N.V.K., Palagiri D. et al. Oxidative Stress in Atherosclerosis // *Current Atherosclerosis Reports*. – 2017. – Vol.19, № 11. – P 42.

23 Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M. et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2017. – Article 8416763. – P. 1-13.

24 Herbet M., Natorska-Chomicka D., Korga A. et al. Altered expression of genes involved in brain energy metabolism as adaptive responses in rats exposed to chronic variable stress; changes in cortical level of glucogenic and neuroactive amino acids // *Molecular medicine reports*. – 2019. – Vol. 9, № 3. – P. 2386-2396.

25 Lemke M.K., Hege A., Crizzle A.M. An Agenda for Advancing Research and Prevention at the Nexus of Work Organization, Occupational Stress, and Mental Health and Well-Being // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2023. – Vol. 20, № 11. – Article 6010.

26 Godoy L.D., Rossignoli M.T., Delfino-Pereira P. et al. A Comprehensive Overview on Stress Neurobiology: Basic Concepts and Clinical Implications // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. – 2018. – Vol. 12. – Article 124.

27 Kim I-B, Lee J-H, Park S-C. The Relationship between Stress, Inflammation, and Depression // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10, № 8. – Article 1929.

28 Osborne M.T., Shin L.M., Mehta N.N., Pitman R.K., Fayad Z.A., Tawakol A. Disentangling the Links Between Psychosocial Stress and Cardiovascular Disease // *Circulation. Cardiovascular imaging*. – 2020. – Vol. 13, № 8. – Article e010931.

- 29 McEwen B.S., Gray J.D., Nasca C. 60 years of neuroendocrinology: redefining neuroendocrinology: stress, sex and cognitive and emotional regulation. // *The Journal of endocrinology*. – 2015. – Vol. 226. – P. 67–83.
- 30 Zhang X., Wang Y., Xue, S., Gong L., Yan J., Zheng Y., Yang X., Fan Y., Han K., Chen Y., Yao L. Chronic stress in adulthood results in microvascular dysfunction and subsequent depressive-like behavior // *Scientific reports*. – 2024. – Vol. 14, № 1. – Article 24022.
- 31 Malhi G. S., Mann J. J. Depression // *Lancet* (London, England). – 2018. – Vol. 392, № 10161. – P. 2299–2312.
- 32 De Aquino J.P., Londono A., Carvalho A.F. An Update on the Epidemiology of Major Depressive Disorder Across Cultures / Y.K.Kim // *Understanding Depression* – Singapore: Springer, 2018. – P. 309-315.
- 33 Zhang L., Cao X.L., Wang S.B., Zheng W., Ungvari G.S., Ng C.H., Zhong B.L., Wang G., Xiang Y.T. The prevalence of bipolar disorder in China: a meta-analysis // *J Affect Disord*. – 2017. – Vol. 207. – P. 413–421.
- 34 Kotłęga D., Gołąb-Janowska M., Masztalewicz M., Ciećwież S., Nowacki P. The emotional stress and risk of ischemic stroke // *Neurologia i neurochirurgia polska*. – 2016. – Vol. 50, № 4. – P. 265–270.
- 35 Nemeroff C.B. Paradise lost: the neurobiological and clinical consequences of child abuse and neglect // *Neuron*. – 2016. – Vol. 89. – P. 892–909.
- 36 Hariri A.R., Holmes A. Finding translation in stress research // *Nature neuroscience*. – 2015. – Vol. 18. – P. 1347–1352.
- 37 Hostinar C.E., Gunnar M.R. Social Support Can Buffer against Stress and Shape Brain Activity // *AJOB neuroscience*. – 2015. – Vol. 6, № 3. – P. 34–42.
- 38 Peterson P.N. JAHA Spotlight on Psychosocial Factors and Cardiovascular Disease // *Journal of the American Heart Association*. – 2020. – Vol. 9, № 9. – Article e017112.
- 39 Li H., He P., Zhang Y., et al. Self-Perceived Psychological Stress and Risk of First Stroke in Treated Hypertensive Patients // *Psychosomatic medicine*. – 2022. – Vol. 84, № 2. – P. 237–243.
- 40 Catabay C. J., Stockman J. K., Campbell J. C. et al. Perceived stress and mental health: The mediating roles of social support and resilience among black women exposed to sexual violence // *Journal of affective disorders*. – 2019. – Vol. 259. – P. 143–149.
- 41 Zhang H., Yu P., Liu X., Wang K. Predictive factors for the development of depression in children and adolescents: a clinical study // *Frontiers in psychiatry*. – 2024. – Vol. 15. - Article 1460801.
- 42 Goldstein D.S. How does homeostasis happen? Integrative physiological, systems biological, and evolutionary perspectives // *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. – 2019. – Vol. 316, № 4. – P. 301–317.
- 43 Slutsky I., Schrott G., Stan G. B., Nelson S., Bruggeman F. J. Homeostasis // *Cell systems*. – 2021. – Vol. 12, № 12. – P. 1124–1126.

- 44 Szabo S., Yoshida M., Filakovszky J., Juhasz G. "Stress" is 80 Years Old: From Hans Selye Original Paper in 1936 to Recent Advances in GI Ulceration // Current pharmaceutical design. – 2017. – Vol. 23, № 27. – P. 4029–4041.
- 45 Tan S. Y., Yip A. Hans Selye (1907-1982): Founder of the stress theory // Singapore medical journal. – 2018. – Vol. 59, № 4. – P. 170–171.
- 46 Gorban A. N., Tyukina T. A., Pokidysheva L. I., Smirnova E. V. Dynamic and thermodynamic models of adaptation // Physics of life reviews. – 2021. – Vol. 37. – P. 17–64.
- 47 Goldstein D. S. Stress and the "extended" autonomic system // Autonomic neuroscience : basic & clinical. – 2021. – Vol. 236. – Article 102889.
- 48 Trostchansky A., Quijano C., Yadav H., Kelley E.E., Cassina A.M. Interplay between Oxidative Stress and Metabolism in Signalling and Disease // Oxidative medicine and cellular longevity. – 2016. – Article 3274296.
- 49 Godoy L.D., Rossignoli M.T., Delfino-Pereira P. et al. A Comprehensive Overview on Stress Neurobiology: Basic Concepts and Clinical Implications // Frontiers in behavioral neuroscience – 2018. – Vol. 12. – Article 127. – P. 1-23.
- 50 Rosada C., Lipka R., Metz S., Otte C., Heekeren H., Wingenfeld K. Effects of stress-related neuromodulators on amygdala and hippocampus resting state functional connectivity // Journal of psychopharmacology (Oxford, England). – 2024. – Vol. 38, № 7. – P. 604–614.
- 51 Sarmiento L. F., Lopes da Cunha P., Tabares S., Tafet G., Gouveia A. Decision-making under stress: A psychological and neurobiological integrative model // Brain, behavior, & immunity – health. – 2024. – Vol. 38. – Article 100766.
- 52 Baram T. Z., Birnie M. T. Enduring memory consequences of early-life stress / adversity: Structural, synaptic, molecular and epigenetic mechanisms // Neurobiology of stress. – 2024. – Vol. 33. – Article 100669.
- 53 Rab S. L., Simon L., Amit Bar-On R., Richter-Levin G., Admon R. Behavioural profiling following acute stress uncovers associations with future stress sensitivity and past childhood abuse // European journal of psychotraumatology. – 2024. – Vol. 15, № 1. - Article 2420554.
- 54 Van Winkel M., Nicolson N.A., Wichers M. et al. Daily life stress reactivity in remitted versus non-remitted depressed individuals // European Psychiatry. – 2015. – Vol. 30, № 4. – P. 441–447.
- 55 Perica M. I., Luna B. Impact of stress on excitatory and inhibitory markers of adolescent cognitive critical period plasticity // Neuroscience and biobehavioral reviews. – 2023. – Vol. 153. – Article 105378.
- 56 Spencer C., Mill R.D., Bhanji J.P., Delgado M.R., Cole M.W., Tricomi E. Acute psychosocial stress modulates neural and behavioral substrates of cognitive control // Human brain mapping. – 2024. – Vol. 45, № 8. – Article e26716.
- 57 Milad E., Bogg T. Personality Traits, Coping, Health-related Behaviors, and Cumulative Physiological Health in a National Sample: 10 Year Prospective Effects of Conscientiousness via Perceptions of Activity on Allostatic Load // Annals of behavioral medicine : a publication of the Society of Behavioral Medicine. – 2020. – Vol. 54, № 11. – P. 880–892.

58 Balazs J., Miklosi M., Halasz J., Horváth L. O., Szentiványi D., Vida P. Suicidal Risk, Psychopathology, and Quality of Life in a Clinical Population of Adolescents // *Frontiers in psychiatry*. – 2018. – Vol. 9, № 17. – Article 17. – P. 1-8.

59 Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5 // American Psychiatric Association – Washington, DC: American psychiatric association: 2013. – Vol. 5 – 992 p.

60 ICD-10 Version:2019 – URL: <https://icd.who.int/browse10/2019/en#/F43> (дата обращения 10.04.2022).

61 Adjustment Disorders // www.hopkinsmedicine.org. – URL: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/adjustment-disorders> (дата обращения 10.04.2022).

62 ICD-11 - Mortality and Morbidity Statistics. – URL: <https://icd.who.int/browse/2024-01/mms/en#264310751> (дата обращения 10.04.2022).

63 Zapata-Ospina J. P., Jiménez-Benítez M., Fierro M. "I was very sad, but not depressed": phenomenological differences between adjustment disorder and a major depressive episode // *Frontiers in psychiatry*. – 2023. – Vol. 14. – Article 1291659.

64 Khouadja S., Haddad A. M., Younes S., Bouali W., Zarrouk L. Risk factors for suicidal behavior in patients hospitalized for adjustment disorders // *La Tunisie medicale*. – 2024. – Vol. 102, № 7. – P. 406–409.

65 Fegan J., Doherty A. M. Adjustment Disorder and Suicidal Behaviours Presenting in the General Medical Setting: A Systematic Review // *International journal of environmental research and public health*. – 2019. – Vol. 16, №16. – Article 2967.

66 Chihara I., Ae R., Kudo Y., Uehara R., Makino N., Matsubara Y., Sasahara T., Aoyama Y., Kotani K., Nakamura Y. Suicidal patients presenting to secondary and tertiary emergency departments and referral to a psychiatrist: a population-based descriptive study from Japan // *BMC psychiatry*. – 2018. – Vol. 18, № 1. – Article 112.

67 Greiner T., Haack B., Toto S., Bleich S., Grohmann R., Faltraco F., Heinze M., Schneider M. Pharmacotherapy of psychiatric inpatients with adjustment disorder: current status and changes between 2000 and 2016 // *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*. – 2020. – Vol. 270, № 1. – P. 107–117.

68 Xu Y. E., Barron D. A., Sudol K., Zisook S., Oquendo M. A. Suicidal behavior across a broad range of psychiatric disorders // *Molecular psychiatry*. – 2023. – Vol. 28, № 7. – P. 2764–2810.

69 Zelviene P., Kazlauskas E., Maercker A. Risk factors of ICD-11 adjustment disorder in the Lithuanian general population exposed to life stressors // *European Journal of Psychotraumatology*. – 2020. – Vol. 11, № 1. – Article 1708617. – P. 1-9.

70 Medscape.com – Frank J.B. Adjustment Disorders at eMedicine. – URL: <https://emedicine.medscape.com/article/2192631-overview> (дата обращения 01.12.2021).

71 Powell A.D. Grief, Bereavement and Adjustment Disorders / Editors T.A.I. Stern, M. Fava, T.E. Wilens, J.F. Rosenbaum / *Massachusetts General Hospital Comprehensive Clinical Psychiatry* – 2nd ed. – Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2015. – P. 428–432.

72 O'Donnell M.L., Agathos J.A., Metcalf O., Gibson K., Lau W. Adjustment Disorder: Current Developments and Future Directions // International journal of environmental research and public health. – 2019. – Vol. 16, № 14. - Article 2537.

73 Dragan M., Grajewski P., Shevlin M. Adjustment disorder, traumatic stress, depression and anxiety in Poland during an early phase of the COVID-19 pandemic // European Journal of Psychotraumatology. – 2021. – Vol. 121. – Article 1860356. – P. 1-9.

74 Sharma K., Akre S., Chakole S., Wanjari M.B. Stress-Induced Diabetes: A Review // Cureus – 2022. – Vol 14, № 9. – Article e29142.

75 Chinnaiyan K.M. Role of stress management for cardiovascular disease prevention // Current opinion in cardiology. – 2019. – Vol 34 , № 5 . – P. 531–535.

76 Meadows J.L., Shah S., Burg, M.M., Pfau S., Soufer R. Cardiovascular Imaging of Biology and Emotion: Considerations Toward a New Paradigm. Circulation // Cardiovascular imaging. – 2020. – Vol 13, № 8. – Article e011054.

77 Kruk J., Aboul-Enein B.H., Bernstein J., Gronostaj M. Psychological Stress and Cellular Aging in Cancer: A Meta-Analysis // Oxidative medicine and cellular longevity. – 2019. – Article 1270397.

78 Park C., Rosenblat J.D., Brietzke E., Pan Z., Lee Y., Cao B., Zuckerman H., Kalantarova A., McIntyre R.S. Stress, epigenetics and depression: A systematic review // Neuroscience and biobehavioral reviews. – 2019 . – Vol 102. – P. 139–152.

79 Strnadová V., Pačesová A., Charvát V., Šmotková Z., Železná B., Kuneš J., Maletínská L. Anorexigenic neuropeptides as anti-obesity and neuroprotective agents: exploring the neuroprotective effects of anorexigenic neuropeptides // Bioscience reports. – 2024 . – Vol 44, № 4. – Article BSR20231385.

80 Chaoui N., Anarghou H., Laaroussi M. et al. Long lasting effect of acute restraint stress on behavior and brain anti-oxidative status // AIMS neuroscience. – 2022. – Vol. 9, № 1. – P. 57–75.

81 Walsh C.P., Bovbjerg D.H., Marsland A.L. Glucocorticoid resistance and β 2-adrenergic receptor signaling pathways promote peripheral pro-inflammatory conditions associated with chronic psychological stress: A systematic review across species // Neuroscience and biobehavioral reviews. – 2021 . – Vol 128. – P. 117–135.

82 Rensel M.A., Schlinger B.A. 11β hydroxysteroid dehydrogenases regulate circulating glucocorticoids but not central gene expression // General and comparative endocrinology. – 2021. – Vol 305. – Article 113734.

83 Johnson J.D., Barnard D.F., Kulp A.C. et al. Neuroendocrine regulation of brain cytokines after psychological stress // Journal of the Endocrine Society. – 2019. – Vol. 3. – P. 1302–1320.

84 Wang S.S., Li Y.Q., Liang Y.Z., Dong J., He Y., Zhang L., Yan Y.X. Expression of miR-18a and miR-34c in circulating monocytes associated with vulnerability to type 2 diabetes mellitus and insulin resistance // Journal of cellular and molecular medicine. – 2017. – Vol 21, № 12. – P. 3372–3380.

85 Hayashi T. Conversion of psychological stress into cellular stress response: Roles of the sigma-1 receptor in the process // Psychiatry and clinical neurosciences. – 2015. – Vol. 69, № 4. – P. 179–191.

86 Lin Y., Jiang M., Chen W., Zhao T., Wei Y. Cancer and ER stress: Mutual crosstalk between autophagy, oxidative stress and inflammatory response // *Biomedicine & pharmacotherapy*. – 2019. – Vol 118. – Article 109249.

87 Kaneko M., Imaizumi K., Saito A., Kanemoto S., Asada R., Matsuhisa K., Ohtake Y. ER Stress and Disease: Toward Prevention and Treatment // *Biological & pharmaceutical bulletin*. – 2017. – Vol 40, № 9. – P. 1337–1343.

88 Bragina L., Bonifacino T., Bassi S. et al. Differential expression of metabotropic glutamate and GABA receptors at neocortical glutamatergic and GABAergic axon terminals // *Frontiers in cellular neuroscience*. – 2015. – Vol. 9. – Article 345. – P. 1-11.

89 Naba A. Ten Years of Extracellular Matrix Proteomics: Accomplishments, Challenges, and Future Perspectives // *Molecular & cellular proteomics : MCP*. – 2023. – Vol 22, № 4. – Article 100528.

90 Rainero E. Extracellular matrix endocytosis in controlling matrix turnover and beyond: emerging roles in cancer // *Biochemical Society transactions*. – 2016. – Vol 44, № 5. – P. 1347–1354.

91 Jazvinščak Jembrek M., Oršolić N., Karlović D., Peitl V. Flavonols in Action: Targeting Oxidative Stress and Neuroinflammation in Major Depressive Disorder // *International journal of molecular sciences*. – 2023. – Vol 24, № 8. – Article 6888.

92 Algamal M., Ojo J.O., Lungmus C.P. et al. Chronic Hippocampal Abnormalities and Blunted HPA Axis in an Animal Model of Repeated Unpredictable Stress // *Frontiers in behavioral neuroscience*. – 2018. – Vol. 12. – P. 150.

93 Sheng J.A., Bales N.J., Myers S.A. et al. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Development, Programming Actions of Hormones, and Maternal-Fetal Interactions // *Frontiers in behavioral neuroscience*. – 2021. – Vol. 14. – Article 601939. – P. 1-21.

94 Calcia M.A., Bonsall D.R., Bloomfield P.S. et al. Stress and neuroinflammation: a systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2016. – Vol. 233. – P. 1637–1650.

95 Niwa M., Lockhart S., Wood D.J., Yang K., Francis-Oliveira J., Kin K., Ahmed A., Wand G.S., Kano S.I., Payne J.L., Sawa A. Prolonged HPA axis dysregulation in postpartum depression associated with adverse early life experiences: A cross-species translational study // *Nature. Mental health*. – 2024. – Vol 2, № 5. – P. 593–604.

96 Jucá P.M., de Almeida Duque É., Covre L.H. H., Mariano K.A.A., Munhoz C.D. Microglia and Systemic Immunity // *Advances in neurobiology*. – 2024. – Vol 37. – P. 287–302.

97 Daniilidou M., Holleman J., Hagman G., Kåreholt I., Aspö M., Brinkmalm A., Zetterberg H., Blennow K., Solomon A., Kivipelto M., Sindi S., Matton, A. Neuroinflammation, cerebrovascular dysfunction and diurnal cortisol biomarkers in a memory clinic cohort: Findings from the Co-STAR study // *Translational psychiatry*. – 2024. – Vol. 14, № 1. – P. 364.

98 McKim D.B., Weber M.D., Niraula A., Sawicki C.M., Liu X., Jarrett B.L., Ramirez-Chan K., Wang Y., Roeth R.M., Sucaldito A.D., Sobol C.G., Quan N.,

Sheridan J.F., Godbout J.P. Microglial recruitment of IL-1 β -producing monocytes to brain endothelium causes stress-induced anxiety // *Molecular psychiatry*. – 2018. – Vol. 23, № 6. – P. 1421–1431.

99 Wang D., Weng Y., Zhang Y., Wang R., Wang T., Zhou J., Shen S., Wang H., Wang Y. Exposure to hyperandrogen drives ovarian dysfunction and fibrosis by activating the NLRP3 inflammasome in mice // *The Science of the total environment*. – 2020. – Vol. 745. – Article 141049.

100 Hassamal S. Chronic stress, neuroinflammation, and depression: an overview of pathophysiological mechanisms and emerging anti-inflammatories // *Frontiers in psychiatry*. – 2023. – Vol. 14. – Article 1130989.

101 Hong J.Y., Lim J., Carvalho F., Cho J.Y., Vaidyanathan B., Yu S., Annicelli C., Ip W.K.E., Medzhitov R. Long-Term Programming of CD8 T Cell Immunity by Perinatal Exposure to Glucocorticoids // *Cell*. – 2020. – Vol. 180, № 5. – P. 847–861.

102 Kroemer G., Montégut L., Kepp O., Zitvogel, L. The danger theory of immunity revisited // *Nature reviews. Immunology*. – 2024. – Vol. 24, № 12. – P. 912–928.

103 Liu Y.Z., Wang Y.X., Jiang C.L. Inflammation: The Common Pathway of Stress-Related Diseases // *Frontiers in human neuroscience*. – 2017. – Vol. 11. – Article 316.

104 Kotas M. E., Medzhitov R. Homeostasis, inflammation, and disease susceptibility // *Cell*. – 2015. – Vol. 160, № 5. – P. 816–827.

105 Rohleder N. Stimulation of systemic low-grade inflammation by psychosocial stress // *Psychosomatic medicine*. – 2015. – Vol. 76, №3. – P. 181–189.

106 Lambert K., Hunter R.G., Bartlett A.A., Lapp H.E., Kent M. In search of optimal resilience ratios: Differential influences of neurobehavioral factors contributing to stress-resilience spectra // *Frontiers in neuroendocrinology*. – 2020. – Vol. 56. – Article 100802.

107 Reichmann F., Holzer P. Neuropeptide Y: A stressful review // *Neuropeptides*. – 2016. – Vol. 55. – P. 99–109.

108 Zhang Y., Shen J., Xie F., Liu Z., Yin F., Cheng M., Wang L., Cai M., Herzog H., Wu P., Zhang Z., Zhan C., Liu T. (2024). Feedforward inhibition of stress by brainstem neuropeptide Y neurons // *Nature communications*. – 2024. – Vol. 15, № 1. – Article 7603.

109 Dodt S., Widdershooven N.V., Dreisow M.L., Weiher L., Steuernagel L., Wunderlich F.T., Brüning J.C., Fenselau H. NPY-mediated synaptic plasticity in the extended amygdala prioritizes feeding during starvation // *Nature communications*. – 2024. – Vol. 15, № 1. – Article 5439.

110 Debnath M., Berk M., Maes M. Translational evidence for the Inflammatory Response System (IRS)/Compensatory Immune Response System (CIRS) and neuroprogression theory of major depression // *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. – 2021. – Vol. 111. – Article 110343.

111 Haroon E., Fleischer C. C., Felger J. C., et al. Conceptual convergence: increased inflammation is associated with increased basal ganglia glutamate in patients with major depression // *Molecular psychiatry*. – 2016. – Vol. 21, № 10. – P. 1351–1357.

112 Goodman E.J., DiSabato D.J., Sheridan J.F., Godbout J. P. Novel microglial transcriptional signatures promote social and cognitive deficits following repeated social defeat // *Communications biology*. – 2024. – Vol. 7, № 1. – Article 1199.

113 Haroon E., Miller A.H. Rewiring the brain: Inflammation's impact on glutamate and neural networks in depression // *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. – 2024. – Vol. 50, № 1. – P. 312–313.

114 Calcia M.A., Bonsall D.R., Bloomfield P.S. et al. Stress and neuroinflammation: a systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness // *Psychopharmacology*. – 2016. – Vol. 233, № 9. – P. 1637–1650.

115 Weber M.D., Frank M.G., Tracey K.J. et al. Stress induces the danger-associated molecular pattern HMGB-1 in the hippocampus of male Sprague Dawley rats: a priming stimulus of microglia and the NLRP3 inflammasome // *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. – 2015. – Vol. 35, № 1. – P. 316–324.

116 Wohleb E.S., Delpech J.C. Dynamic cross-talk between microglia and peripheral monocytes underlies stress-induced neuroinflammation and behavioral consequences // *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. – 2017. – Vol. 79, Part A. – P. 40–48.

117 Schneider K.M., Blank N., Alvarez Y., et al. The enteric nervous system relays psychological stress to intestinal inflammation // *Cell*. – 2023. – Vol.186, № 13. – Article e20. – P. 2823–2838.

118 Liu Y.Z., Wang Y.X., Jiang C.L. Inflammation: The Common Pathway of Stress-Related Diseases // *Frontiers in human neuroscience*. – 2017. – Vol. 11. – Article 316. – P. 1-11.

119 Rea K., Dinan T.G., Cryan J.F. The microbiome: A key regulator of stress and neuroinflammation // *Neurobiology of stress*. – 2016. – Vol. 4. – P. 23–33.

120 Macfarlane E., Zhou H., Seibel, M.J. The glucocorticoid receptor in skeletal health and disease: insights from targeted knockout mice // *The Journal of endocrinology*. – 2024. – Vol. 261, № 2. – Article e230399.

121 Thuzar M., Hannah-Shmouni F., Stowasser M. Editorial: Adrenal neuroendocrine system and cardiometabolic health: pathophysiology and clinical implications // *Frontiers in endocrinology*. – 2023. – Vol. 14. – Article 1295655.

122 Visan I. Stress-induced inflammation // *Nature immunology*. – 2023. – Vol. 24, № 7. – Article 1051.

123 Fyfe I. Enteric nervous system transfers stress to the gut. *Nature reviews // Gastroenterology & hepatology*. – 2023. – Vol. 20, № 8. – Article 484.

124 Solano J.L., Menard C. A gut feeling: The stressed brain drives intestinal inflammation // *Immunity*. – 2023. – Vol. 56, № 8. – P. 1709–1711.

125 Inchiosa M.A., Jr Beta2-Adrenergic Suppression of Neuroinflammation in Treatment of Parkinsonism, with Relevance for Neurodegenerative and Neoplastic Disorders // *Biomedicines*. – 2024. – Vol. 12, № 8. – Article 1720.

126 Delpech J.C., Valdearcos M., Nadjar A. Stress and Microglia: A Double-edged Relationship // *Advances in neurobiology*. – 2024. – Vol. 37. – P. 333–342.

127 Wohleb E.S., McKim D.B., Sheridan J.F. et al. Monocyte trafficking to the brain with stress and inflammation: a novel axis of immune-to-brain communication that influences mood and behavior // *Frontiers in neuroscience*. – 2015. – Vol. 8. – Article 447. – P. 1-17.

128 González Ibáñez F., VanderZwaag J., Deslauriers J., Tremblay M. È. Ultrastructural features of psychological stress resilience in the brain: a microglial perspective // *Open biology*. – 2024. – Vol. 14, № 11. – Article 240079.

129 D'Mello C., Ronaghan N., Zaheer R. et al. Probiotics Improve Inflammation-Associated Sickness Behavior by Altering Communication between the Peripheral Immune System and the Brain // *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. – 2015. – Vol. 35, №30. – P. 10821–10830.

130 Ramirez K., Fornaguera-Trías J., & Sheridan J. F. Stress-Induced Microglia Activation and Monocyte Trafficking to the Brain Underlie the Development of Anxiety and Depression // *Current topics in behavioral neurosciences*. – 2017. – Vol. 31. – P. 155–172.

131 Wohleb E.S., McKim D.B., Sheridan J.F. et al. Monocyte trafficking to the brain with stress and inflammation: a novel axis of immune-to-brain communication that influences mood and behavior // *Frontiers in neuroscience*. – 2015. – Vol. 8. – Article 447. – P. 1-17.

132 Erny D., Hrabě de Angelis A.L., Jaitin D. et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS // *Nature neuroscience*. – 2015. – Vol. 18, № 7. – P. 965–977.

133 Kobayashi M., Mikami D., Kimura H., et al. Short-chain fatty acids, GPR41 and GPR43 ligands, inhibit TNF- α -induced MCP-1 expression by modulating p38 and JNK signaling pathways in human renal cortical epithelial cells // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2017. – Vol. 486, № 2. – P. 499–505.

134 Bansal Y., Kuhad A. Mitochondrial dysfunction in depression // *Current neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 14, № 6 – P. 610–618.

135 Herbet M., Natorka-Chomicka D., Korga A. et al. Altered expression of genes involved in brain energy metabolism as adaptive responses in rats exposed to chronic variable stress; changes in cortical level of glucogenic and neuroactive amino acids // *Molecular Medicine Reports*. – 2019. – Vol. 19, № 3. – P. 2386-2396.

136 Khan S., Khan R.A. Chronic stress leads to anxiety and depression // *Annals of Psychiatry and Mental Health*. – 2017. – Vol. 5, № 1. – Article 1091. – P. 1-4.

137 Wegener A.J., Hyer M.M., Targett I., et al. Behavior, synaptic mitochondria, and microglia are differentially impacted by chronic adolescent stress and repeated endotoxin exposure in male and female rats // *Stress (Amsterdam, Netherlands)*. – 2024. – Vol. 27, № 1. – Article 2299971.

138 Basilico B., Pagani F., Grimaldi A., et al. Microglia shape presynaptic properties at developing glutamatergic synapses // *Glia*. – 2019. – Vol. 67, № 1. – P. 53–67.

139 Detka J., Kurek A., Kucharczyk M. et al. Brain glucose metabolism in an animal model of depression // *Neuroscience*. – 2015. – Vol. 295. – P. 198–208.

- 140 Yang S., Park J.H., Lu H. C. Axonal energy metabolism, and the effects in aging and neurodegenerative diseases // *Molecular neurodegeneration*. – 2023. – Vol. 18, № 1. – Article 49.
- 141 Skwarzynska D., Sun H., Williamson J., Kasprzak I., Kapur J. Glycolysis regulates neuronal excitability via lactate receptor, HCA1R // *Brain : a journal of neurology*. – 2023. – Vol. 146, № 5. – P. 1888–1902.
- 142 Almeida A., Jimenez-Blasco D., Bolaños J. P. Cross-talk between energy and redox metabolism in astrocyte-neuron functional cooperation // *Essays in biochemistry*. – 2023. – Vol. 67, № 1. – P. 17–26.
- 143 Griffin J.W., Bradshaw P.C. Amino acid catabolism in Alzheimer's disease brain: Friend or foe? // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2017. – Article 5472792. – P. 1-15.
- 144 Chiefari E., Foti D.P., Sgarra R. et al. Transcriptional Regulation of Glucose Metabolism: The Emerging Role of the HMGA1 Chromatin Factor // *Frontiers in endocrinology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 357.
- 145 Camandola S., Mattson M.P. Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration // *The EMBO journal*. – 2017. – Vol. 36, № 11. – P. 1474–1492.
- 146 Hoyer F.F., Naxerova K., Schloss M.J., et al. Tissue-Specific Macrophage Responses to Remote Injury Impact the Outcome of Subsequent Local Immune Challenge // *Immunity*. – 2019. – Vol. 51, № 5. – Article e7. – P. 899–914.
- 147 Kapogiannis D., Avgerinos K.I. Brain glucose and ketone utilization in brain aging and neurodegenerative diseases // *International review of neurobiology*. – 2020. – Vol. 154. – P. 79–110.
- 148 Liemburg-Apers D.C., Willems P.H., Koopman W.J. et al. Interactions between mitochondrial reactive oxygen species and cellular glucose metabolism // *Archives of toxicology*. – 2015. – Vol. 89, № 8. – P. 1209–1226.
- 149 Yip J., Geng X., Shen J. et al. Cerebral gluconeogenesis and diseases // *Frontiers in pharmacology*. – 2017. – Vol. 7. – Article 521. – P. 1-12.
- 150 Rothman D.L., Dienel G.A., Behar K.L., et al. Glucose sparing by glycogenolysis (GSG) determines the relationship between brain metabolism and neurotransmission // *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. – 2022. – Vol. 42, № 5. – P. 844–860.
- 151 Dienel G.A., Cruz N.F. Contributions of glycogen to astrocytic energetics during brain activation // *Metabolic brain disease*. – 2015. – Vol. 30, № 1. – P. 281–298.
- 152 Dalangin R., Kim A., Campbell R.E. The Role of Amino Acids in Neurotransmission and Fluorescent Tools for Their Detection // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21, № 17. – Article 6197. – P. 1-36.
- 153 Kula B., Chen T.J., Kukley M. Glutamatergic signaling between neurons and oligodendrocyte lineage cells: Is it synaptic or non-synaptic? // *Glia*. – 2019. – Vol. 67, № 11. – P. 2071–2091.
- 154 Mustafa Rizvi S.H., Shao D., Tsukahara Y., et al. Oxidized GAPDH transfers S-glutathionylation to a nuclear protein Sirtuin-1 leading to apoptosis // *Free radical biology & medicine*. – 2021. – Vol. 174. – P. 73–83.

155 Matsui R., Ferran B., Oh A., et al. Redox Regulation via Glutaredoxin-1 and Protein S-Glutathionylation // *Antioxidants & redox signaling*. – 2020. – Vol. 32, № 10. – P. 677–700.

156 Chia S.B., Elko E.A., Aboushousha R., et al. Dysregulation of the glutaredoxin/S-glutathionylation redox axis in lung diseases. *American journal of physiology // Cell physiology*. – 2020. – Vol. 318, № 2. – P. 304–327.

157 Druso J.E., MacPherson M.B., Chia S.B., et al. Endoplasmic Reticulum Oxidative Stress Promotes Glutathione-Dependent Oxidation of Collagen-1A1 and Promotes Lung Fibroblast Activation // *American journal of respiratory cell and molecular biology*. – 2024. – Vol. 71, № 5. – P. 589–602.

158 Kasashima K., Endo H. Interaction of human mitochondrial transcription factor A in mitochondria: its involvement in the dynamics of mitochondrial DNA nucleoids // *Genes to cells: devoted to molecular & cellular mechanisms*. – 2015. – Vol. 20, № 12. – P. 1017–1027.

159 Matsui R., Ferran B., Oh A., et al. Redox Regulation via Glutaredoxin-1 and Protein S-Glutathionylation // *Antioxidants & redox signaling*. – 2020. – Vol. 32, № 10. – P. 677–700.

160 Schmalhausen E.V., Medvedeva M.V., Serebryakova M.V., et al. Products of S-nitrosylation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: Relation between S-nitrosylation and oxidation // *Biochimica et biophysica acta. General subjects*. – 2022. – Vol. 1866, № 1. – Article 130032.

161 Dziwka M., Złotek M., Herbet M., Piątkowska-Chmiel I. Molecular and Cellular Foundations of Aging of the Brain: Anti-aging Strategies in Alzheimer's Disease // *Cellular and molecular neurobiology*. – 2024. – Vol. 44, № 1. – Article 80.

162 Muronetz V.I., Medvedeva M.V., Sevostyanova I.A., Schmalhausen E.V. Modification of Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase with Nitric Oxide: Role in Signal Transduction and Development of Apoptosis // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11, № 11. – Article 1656.

163 Bak L.K., Schousboe A. Misconceptions regarding basic thermodynamics and enzyme kinetics have led to erroneous conclusions regarding the metabolic importance of lactate dehydrogenase isoenzyme expression // *Journal of neuroscience research*. – 2017. – Vol. 95, № 11. – P. 2098–2102.

164 Shichkova P., Coggan J.S., Markram H., Keller D. Brain Metabolism in Health and Neurodegeneration: The Interplay Among Neurons and Astrocytes // *Cells*. – 2024. – Vol. 13, № 20. – Article 1714.

165 Yang H., Mo N., Tong L., et al. Microglia lactylation in relation to central nervous system diseases // *Neural regeneration research*. – 2025. – Vol. 20, № 1. – P. 29–40.

166 Cerantonio A., Citrigno L., Greco B. M., et al. The Role of Mitochondrial Copy Number in Neurodegenerative Diseases: Present Insights and Future Directions // *International journal of molecular sciences*. – 2024. – Vol. 25, № 11. – Article 6062.

167 Song Y., Wang W., Wang B., Shi, Q. The Protective Mechanism of TFAM on Mitochondrial DNA and its Role in Neurodegenerative Diseases // *Molecular neurobiology*. – 2024. – Vol. 61, № 7. – P. 4381–4390.

168 Fu Z., Ye J., Dean J. W., et al. Requirement of Mitochondrial Transcription Factor A in Tissue-Resident Regulatory T Cell Maintenance and Function // *Cell reports*. – 2019. – Vol. 28, № 1. – Article e4. – P. 159–171.

169 Kozhukhar N., Alexeyev M. F. 35 Years of TFAM Research: Old Protein // New Puzzles. *Biology*. – 2023. – Vol. 12, № 6. – Article 823.

170 Zhao L. Mitochondrial DNA degradation: A quality control measure for mitochondrial genome maintenance and stress response // *The Enzymes*. – 2019. – Vol. 45. – P. 311–341.

171 Dienel G. A. Lack of appropriate stoichiometry: Strong evidence against an energetically important astrocyte-neuron lactate shuttle in brain // *Journal of neuroscience research*. – 2017. – Vol. 95, № 11. – P. 2103–2125.

172 Pio T., Hill E.J., Kebede N., et al. Neuron-Astrocyte Interactions: A Human Perspective // *Advances in neurobiology*. – 2024. – Vol. 39. – P. 69–93.

173 Bansal Y., Codeluppi S.A., Banasr M. Astroglial Dysfunctions in Mood Disorders and Rodent Stress Models: Consequences on Behavior and Potential as Treatment Target // *International journal of molecular sciences*. – 2024. – Vol. 25, № 12. – Article 6357.

174 Charron V., Talbot J., Labelle P.R., et al. In search of prosociality in rodents: A scoping review // *PloS one*. – 2024. – Vol. 19, № 11. – Article e0310771.

175 Wang B., Wei X., Zhao X., et al. A Review on In Vivo Research Dehydration Models and Application of Rehydration Strategies // *Nutrients*. – 2024. – Vol. 16, № 20. – Article 3566.

176 Rajan K.E., Nishanthini B., Sowndharya S. AMP-Activated Protein Kinase Treatment Ameliorates Chronic Restraint Stress Induced Memory Impairment in Early Adolescent Rat by Restoring Metabolite Profile and Synaptic Proteins // *Neurochemical research*. – 2024. – Vol. 50, № 1. – Article 19.

177 Zhao L., Wang C., Wang J., et al. Low CO₂ partial pressure steers CHO cells into a defective metabolic state // *Biotechnology letters*. – 2023. – Vol. 45, № 9. – P. 1103–1115.

178 Shao W.H., Chen J.J., Fan S.H. et al. Combined metabolomics and proteomics analysis of major depression in an animal model: Perturbed energy metabolism in the chronic mild stressed rat cerebellum // *Omics: a journal of integrative biology*. – 2015. – Vol.19, № 7. – P.383–392.

179 Papageorgiou M.P., Theodoridou D., Nussbaumer M., et al. Deciphering the Metabolome under Stress: Insights from Rodent Models // *Current neuropharmacology*. – 2024. – Vol. 22, № 5. – P. 884–903.

180 Gaschler M.M., Stockwell B.R. Lipid peroxidation in cell death // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2017. – Vol. 482, № 3. – P. 419–425.

181 Ursini F., Maiorino M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4 // *Free radical biology & medicine*. – 2020. – Vol. 152. – P. 175–185.

182 Su L.J., Zhang J.H., Gomez H., et al. Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – Vol. 2019. – Article5080843.

183 Peña-Bautista C., Vento M., Baquero M., Cháfer-Pericás, C. Lipid peroxidation in neurodegeneration // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. – 2019. – Vol. 497. – P. 178–188.

184 Wang B., Wang Y., Zhang J., et al. ROS-induced lipid peroxidation modulates cell death outcome: mechanisms behind apoptosis, autophagy, and ferroptosis // *Archives of toxicology*. – 2023. – Vol. 97, № 6. – P. 1439–1451.

185 Gęgotek A., Skrzydlewska E. Biological effect of protein modifications by lipid peroxidation products // *Chemistry and physics of lipids*. – 2019. – Vol. 221. – P. 46–52.

186 Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Reprint of: Oxygen Free Radicals and Iron in Relation to Biology and Medicine: Some Problems and Concepts // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 2022. – Vol. 726. – Article 109246.

187 Lundgren C.A.K., Sjöstrand D., Biner O., et al. Scavenging of superoxide by a membrane-bound superoxide oxidase // *Nature chemical biology*. – 2018. – Vol. 14, № 8. – P. 788–793.

188 Que X., Hung M.Y., Yeang C., et al. Oxidized phospholipids are proinflammatory and proatherogenic in hypercholesterolaemic mice // *Nature*. – 2018. – Vol. 558, № 7709. – P. 301–306.

189 Liu Y., Feng D., Shui L., et al. The research landscape of ferroptosis in neurodegenerative disease: a bibliometric analysis // *Frontiers in aging neuroscience*. – 2024. – Vol. 16. – Article 1417989.

190 Chen F., Kang R., Tang D., Liu J. Ferroptosis: principles and significance in health and disease // *Journal of hematology & oncology*. – 2024. – Vol. 17, № 1. – P. 41.

191 Hu Y., Zhao G., Wang J., et al. Lipid oxidation and aldehyde formation during in vitro gastrointestinal digestion of roasted scallop (*Patinopecten yessoensis*) - the role of added antioxidant of bamboo leaves // *Food & function*. – 2021. – Vol. 12, № 21. – P. 11046–11057.

192 Sousa B.C., Pitt A.R., Spickett C.M. Chemistry and analysis of HNE and other prominent carbonyl-containing lipid oxidation compounds // *Free radical biology & medicine*. – 2017. – Vol. 111. – P. 294–308.

193 Valko M., Jomova K., Rhodes C.J., Kuča K., Musílek K. Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease // *Archives of toxicology*. – 2016. – Vol. 90, № 1. – P. 1–37.

194 Liu W., Li L., Kuang H., Xia Y., et al. Proteomic Profile of Carbonylated Proteins Screen Regulation of Apoptosis via CaMK Signaling in Response to Regular Aerobic Exercise // *BioMed research international*. – 2018. – Vol. 2018. – Article 2828143.

195 Rózanowska M.B. Lipofuscin, Its Origin, Properties, and Contribution to Retinal Fluorescence as a Potential Biomarker of Oxidative Damage to the Retina // *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. – 2023. – Vol. 12, № 12. – Article 2111.

196 Smith A.K., Wade A.R., Penkman K.E.H., Baker D.H. Dietary modulation of cortical excitation and inhibition // *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*. – 2017. – Vol. 31, № 5. – P. 632–637.

197 Lorente L., Martín M.M., Abreu-González P. et al. Maintained high sustained serum malondialdehyde levels after severe brain trauma injury in non-survivor patients // *BMC research notes*. – 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 789.

198 Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges // *Analytical biochemistry*. – 2017. – Vol. 524. – P. 13–30.

199 Busch C.J., Binder C.J. (2017). Malondialdehyde epitopes as mediators of sterile inflammation. *Biochimica et biophysica acta // Molecular and cell biology of lipids*. – 2017. – Vol. 1862, № 4. – P. 398–406.

200 Sun H., Li J., Maimaiti B., et al. Circulating malondialdehyde level in patients with epilepsy: A meta-analysis // *Seizure*. – 2022. – Vol. 99. – P. 113–119.

201 Jelic M.D., Mandic A.D., Maricic S.M., Srdjenovic B.U. Oxidative stress and its role in cancer // *Journal of cancer research and therapeutics*. – 2021. – Vol. 17, № 1. – P. 22–28.

202 Aguilar Diaz De Leon J., Borges C.R. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay // *Journal of visualized experiments: JoVE*. – 2020. – Vol. 159. – Article 10.3791/61122.

203 Megarioti A.H., Esch B.M., Athanasopoulos A., et al. Ferroptosis-protective membrane domains in quiescence // *Cell reports*. – 2023. – Vol. 42, № 12. – Article 113561.

204 Nayak J., Jena S.R., Samanta L. Oxidative Stress and Sperm Dysfunction: An Insight Into Dynamics of Semen Proteome / Editors: R. Henkel, L. Samanta, A. Agarwal // *Oxidants, Antioxidants and Impact of the Oxidative Status in Male Reproduction* – Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 2019. – Chapter 4.3. – P. 261-275.

205 Colombo G., Clerici M., Garavaglia M.E., et al. A step-by-step protocol for assaying protein carbonylation in biological samples // *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. – 2016. – Vol. 1019. – P. 178–190.

206 Catalán V., Frühbeck G., Gómez-Ambrosi, J. Inflammatory and Oxidative Stress Markers in Skeletal Muscle of Obese Subjects / Editors: A.M. del Moral, C.M.A. García // *Obesity*. – Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 2018. – Chapter. 8. – P. 163–189.

207 Saeed M., Kausar M.A., Singh R., Siddiqui A.J., & Akhter A. The Role of Glyoxalase in Glycation and Carbonyl Stress Induced Metabolic Disorders // *Current protein & peptide science*. – 2020. – Vol. 21, № 9. – P. 846–859.

208 Petri S., Korner S., Kiaei M. Nrf2/ARE signaling pathway: Key mediator in oxidative stress and potential therapeutic target in ALS // *Neurology Research International*. – 2012. – Vol. 2012. – Article 878030. – P. 1–8.

209 Panis C. Unraveling Oxidation-Induced Modifications in Proteins by Proteomics // *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. – 2014. – Vol. 94. – P. 19–38.

210 Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Ключев Д.А. и др. – Мембраносвязанный гемоглобин в норме и при патологических состояниях // *Медицина и экология*. – 2020. – №1 (94). – С. 58-64.

211 Насыбулина М.Х., Космачевская О.В., Блиндарь В.Н. и др. Мембраносвязанный гемоглобин как потенциальный диагностический показатель / Под ред. Е.Л. Глориозова // Матер. междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии». Гур-зуф – М.: ООО «Институт новых информационных технологий», 2017. – С. 44-51.

212 Lee Y. S., Son M., Zhbanov A. et al. Temperature Correction to Enhance Blood Glucose Monitoring Accuracy Using Electrical Impedance Spectroscopy // Sensors. – 2020. – Vol. 20, Special Issue № 21. – Article. 6231 – P. 1-12.

213 Matavos-Aramyan S., Moussavi M., Matavos-Aramyan H. et al. Cryptosporidium-contaminated water disinfection by a novel Fenton process // Free Radical Biology and Medicine. – 2017. – Vol. 106. – P. 158–167.

214 Angelova P.R., Choi M.L., Berezhnov A.V., et al. (2020). Alpha synuclein aggregation drives ferroptosis: an interplay of iron, calcium and lipid peroxidation // Cell death and differentiation. – 2020. – Vol. 27, № 10. – P. 2781–2796.

215 Yoshida T., Prudent M., D'alessandro A. (2019). Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences // Blood transfusion = Trasfusione del sangue. – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 27–52.

216 Blat A., Makowski W., Smenda J., et al. (2024). Human erythrocytes under stress. Spectroscopic fingerprints of known oxidative mechanisms and beyond // Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy. – 2024. – Vol. 313. – Article 124142.

217 Pellegrino C., Stone E. F., Valentini C. G., Teofili L. (2024). Fetal Red Blood Cells: A Comprehensive Review of Biological Properties and Implications for Neonatal Transfusion // Cells. – 2024. – Vol. 13, № 22. – Article 1843.

218 Maessen D.E.M., Stehouwer C.D., Schalkwijk C.G. The role of methylglyoxal and the glyoxalase system in diabetes and other age-related diseases. // Clinical Science. – 2015. – Vol. 128, № 12. – P. 839-861.

219 Chaudhuri J., Bains Y., Guha S. et al. The Role of Advanced Glycation End Products in Aging and Metabolic Diseases: Bridging Association and Causality // Cell Metabolism. – 2018. – Vol. 28, № 3. – P. 337-352.

220 Nigro C., Leone A., Fiory F. et al. – Dicarbonyl stress at the crossroads of healthy and unhealthy aging // Cells. – 2019. – Vol. 8, № 7. – P. 749.

221 Sai Sachin L., Nagarjuna Chary R., Pavankumar P., Prabhakar S. (2018). Identification and characterization of reaction products of 5-hydroxytryptamine with methylglyoxal and glyoxal by liquid chromatography/tandem mass spectrometry // Rapid communications in mass spectrometry : RCM. – 2018. – Vol. 32, № 17. – P. 1529–1539.

222 Koike S., Tsurudome S., Okano S., Kishida A., Ogasawara Y. Dimethyl Fumarate Reduces Methylglyoxal-derived Carbonyl Stress Through Nrf2/GSH Activation in SH-SY5Y Cells // Neurochemical research. – 2024. – Vol. 50, № 1. – Article 28.

223 Allaman I., Bélanger M., Magistretti P.J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis // Frontiers in Neuroscience. – 2015. – Vol. 9. – Article 23. – P. 1 – 12.

224 Jensen S.J., Cuthbert B.J., Garza-Sánchez F., et al. Advanced glycation end-product crosslinking activates a type VI secretion system phospholipase effector protein // *Nature communications*. – 2024. – Vol. 15, № 1. – Article 8804.

225 Zheng L., Li X., Widjaja F., Liu C., Rietjens I.M.C.M. Use of physiologically based kinetic modeling to predict neurotoxicity and genotoxicity of methylglyoxal in humans // *NPJ science of food*. – 2024. – Vol. 8, № 1. – Article 79.

226 Schalkwijk C.G., & Stehouwer C.D.A. Methylglyoxal, a Highly Reactive Dicarbonyl Compound, in Diabetes, Its Vascular Complications, and Other Age-Related Diseases // *Physiological reviews*. – 2020. – Vol. 100, № 1. – P. 407–461.

227 Kold-Christensen, R., & Johannsen, M. Methylglyoxal Metabolism and Aging-Related Disease: Moving from Correlation toward Causation // *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. – 2020. – Vol. 31, № 2. – P. 81–92.

228 de Bari L., Atlante A., Armeni T., Kalapos M.P. Synthesis and metabolism of methylglyoxal, S-D-lactoylglutathione and D-lactate in cancer and Alzheimer's disease. Exploring the crossroad of eternal youth and premature aging // *Ageing research reviews*. – 2019. – Vol. 53. – Article 100915.

229 Zemva J., Pfaff D., Groener J. B., et al. Effects of the Reactive Metabolite Methylglyoxal on Cellular Signalling, Insulin Action and Metabolism - What We Know in Mammals and What We Can Learn From Yeast // *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. – 2019. – Vol. 127, № 4. – P. 203–214.

230. Sudnitsyna M. V., Gusev N. B. Methylglyoxal and Small Heat Shock Proteins // *Biochemistry. Biokhimiia*. – 2017. – Vol. 82, № 7. – P. 751–759.

231 Dube G., Tiamiou A., Bizet M., et al. Methylglyoxal: a novel upstream regulator of DNA methylation // *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*. – 2023. – Vol. 42, № 1. – Article 78.

232 Berends E., van Oostenbrugge R.J., Foulquier S., Schalkwijk C.G. Methylglyoxal, a highly reactive dicarbonyl compound, as a threat for blood brain barrier integrity // *Fluids and barriers of the CNS*. – 2023. – Vol. 20, № 1. – Article 75.

233 Işık M., Tunç A., Duran, H. E., et al. Evaluation of the relationship among gene expressions and enzyme activities with antioxidant role and presenilin 1 expression in Alzheimer's disease // *Journal of cellular and molecular medicine*. – 2023. – Vol. 27, № 21. – P. 3388–3394.

234 Zabel M., Nackenoff A., Kirsch W.M., et al. Markers of oxidative damage to lipids, nucleic acids and proteins and antioxidant enzymes activities in Alzheimer's disease brain: A meta-analysis in human pathological specimens // *Free radical biology & medicine*. – 2018. – Vol. 115. – P. 351–360.

235 Zou P., Wu C., Liu T. C., Duan R., Yang, L. Oligodendrocyte progenitor cells in Alzheimer's disease: from physiology to pathology // *Translational neurodegeneration*. – 2023. – Vol. 12, № 1. – Article 52.

236 Ransy C., Vaz C., Lombès A., Bouillaud F. Use of H₂O₂ to Cause Oxidative Stress, the Catalase Issue // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21, № 23. – Article 9149.

237 Anwar S., Alrumaihi F., Sarwar T., et al. Exploring Therapeutic Potential of Catalase: Strategies in Disease Prevention and Management // *Biomolecules*. – 2024. – Vol. 14, № 6. – Article 697.

238 Li S., Hou H., Mori T., et al. Swedish mutant APP-based BACE1 binding site peptide reduces APP β -cleavage and cerebral A β levels in Alzheimer's mice // *Scientific reports*. – 2015. – Vol. 5. – Article 11322.

239 Jomova K., Makova M., Alomar S. Y., et al. Essential metals in health and disease // *Chemico-biological interactions*. – 2022. – Vol. 367. – Article 110173.

240 Nandi A., Yan L. J., Jana C.K. et al. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – Vol. 2019. – Article 9613090. – P. 1 – 19.

241 Ali F., Manzoor U., Bhattacharya R., et al. Brain Metabolite, Myo-inositol, Inhibits Catalase Activity: A Mechanism of the Distortion of the Antioxidant Defense System in Alzheimer's disease // *ACS omega*. – 2022. – Vol. 7, № 15. – P. 12690–12700.

242 Zhunussov Y., Taizhanova D., Abdullabekova R. et al. Optimum application of modern antithrombotic drugs among patients with the acute coronary syndrome with the risk of stricture formation of coronary arteries // *Georgian medical news*. – 2016. – Vol. 251. – P. 40-45.

243 Pedata F., Dettori I., Coppi E., et al. Purinergic signalling in brain ischemia // *Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 104. – P. 105–130.

244 Cieślak M., Czarnecka J., Roszek K. The roles of purinergic signaling in psychiatric disorders // *Acta biochimica Polonica*. – 2016. – Vol. 63 , № 1 . – P. 1–9.

245 Krügel U. Purinergic receptors in psychiatric disorders // *Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 104 . – P. 212–225.

246 Lindberg D., Shan D., Ayers-Ringler J., et al. Purinergic signaling and energy homeostasis in psychiatric disorders // *Current molecular medicine*. – 2015. – Vol. 15, № 3. – P. 275–295.

247 Beamer E., Gölöncsér F., Horváth G., et al. Purinergic mechanisms in neuroinflammation: An update from molecules to behavior // *Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 104 . – P. 94–104.

248 Guo Y., Wu H., Dong D. et al. Stress and the brain: Emotional support mediates the association between myelination in the right supramarginal gyrus and perceived chronic stress // *Neurobiology of stress*. – 2022. – Vol. 22. – Article 100511. – P. 1-9.

249 Li G., Le T. M., Wang W. et al. Perceived stress, self-efficacy, and the cerebral morphometric markers in binge-drinking young adults // *NeuroImage. Clinical*. – 2021. – Vol. 32. – Article 102866. – P. 1-10.

250 McEwen B.S., Bowles N.P., Gray J. et al. Mechanisms of stress in the brain // *Nature neuroscience*. – 2015. – Vol. 18, № 10. – P. 1353–1363.

251 Sherman S.M., Cheng Y.-P., Fingerma K.L. et al. Social support, stress and the aging brain // *Social cognitive and affective neuroscience*. – 2016. – Vol. 11, № 7. – P. 1050-1058.

252 Grupe D.W., Barnes A.L., Gresham L., Kirvin-Quamme A., Nord E., Alexander A.L., Abercrombie H.C., Schaefer S.M., Davidson R.J. Perceived stress

associations with hippocampal-dependent behavior and hippocampal subfield volume // *Neurobiology of Stress*. – 2022. – Vol. 19. – Article 100469.

253 Klaming R., Harlé K.M., Infante M.A. et al. Shared gray matter reductions across alcohol use disorder and posttraumatic stress disorder in the anterior cingulate cortex: A dual meta-analysis // *Neurobiology of stress*. – 2018. – Vol. 10. – Article 100132. – P. 1-11.

254 Wadden K.P., Snow N.J., Sande P. et al. Yoga Practitioners Uniquely Activate the Superior Parietal Lobule and Supramarginal Gyrus During Emotion Regulation // *Frontiers in integrative neuroscience*. – 2018. – Vol. 12. – Article 60. – P. 1-11.

255 Limanowski J., Blankenburg F. Network activity underlying the illusory self-attribution of a dummy arm // *Human brain mapping*. – 2015. – Vol. 36, № 6. – P. 2284–2304.

256 Blanke O., Slater M., Serino A. Behavioral, Neural, and Computational Principles of Bodily Self-Consciousness // *Neuron*. – 2015. – Vol. 88, № 1. – P. 145–166.

257 di Pellegrino G., Làdavas E. Peripersonal space in the brain // *Neuropsychologia*. – 2015. – Vol. 66. – P. 126–133.

258 Bogdanova O.V., Bogdanov V.B., Dureux A. et al. The Peripersonal Space in a social world // *Cortex; a journal devoted to the study of the nervous system and behavior*. – 2021. – Vol. 142. – P. 28–46.

259 Serino A. Peripersonal space (PPS) as a multisensory interface between the individual and the environment, defining the space of the self // *Neuroscience and biobehavioral reviews*. – 2019. – Vol. 99. – P. 138-159.

260 de Borst A.W., Sanchez-Vives M.V., Slater M. et al. First-Person Virtual Embodiment Modulates the Cortical Network that Encodes the Bodily Self and Its Surrounding Space during the Experience of Domestic Violence // *eNeuro*. – 2020. – Vol. 7, № 3. – Article ENEURO.0263-19.2019. – P. 1-14.

261 Grivaz P., Blanke O., Serino A. Common and distinct brain regions processing multisensory bodily signals for peripersonal space and body ownership // *NeuroImage*. – 2017. – Vol. 147. – P. 602–618.

262 Kogler L., Müller V.I., Chang A. et al. Psychosocial versus physiological stress - Meta-analyses on deactivations and activations of the neural correlates of stress reactions // *NeuroImage*. – 2015. – Vol. 119. – P. 235–251.

263 Bijata M., Bączyńska E., Müller F.E., et al. Activation of the 5-HT7 receptor and MMP-9 signaling module in the hippocampal CA1 region is necessary for the development of depressive-like behavior // *Cell reports*. – 2022. – Vol. 38, № 11. – Article 110532.

264 Zimmerman M.E., Ezzati A., Katz M.J., et al. Perceived stress is differentially related to hippocampal subfield volumes among older adults // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, № 5. – Article e0154530. – P. 1-10.

265 Nolan M., Roman E., Nasa A., Levins K. J., O'Hanlon E., O'Keane V., Willian Roddy D. Hippocampal and Amygdalar Volume Changes in Major Depressive Disorder: A Targeted Review and Focus on Stress // *Chronic stress (Thousand Oaks, Calif.)*. – 2020. – Vol. 4. – Article 2470547020944553.

266 van Rooij S.J.H., Stevens J.S., Ely T.D. et al. The Role of the Hippocampus in Predicting Future Posttraumatic Stress Disorder Symptoms in Recently Traumatized Civilians // *Biological psychiatry*. – 2017. – Vol. 84, № 2. – P. 106-112.

267 Koch S.B.J., van Ast V.A., Kaldewaij R. et al. Larger dentate gyrus volume as predisposing resilience factor for the development of trauma-related symptoms // *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. – 2021. – Vol. 46, № 7. – P. 1283-1292.

268 Anacker C., Hen R. Adult hippocampal neurogenesis and cognitive flexibility — linking memory and mood // *Nature reviews. Neuroscience*. – 2017. – Vol. 18, № 6. – P. 335-346.

269 Besnard A., Sahay A. Adult Hippocampal Neurogenesis, Fear Generalization, and Stress // *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. – 2016. – Vol. 41, № 1. – P. 24–44.

270 Liberzon I., Abelson J.L. Context processing and the neurobiology of post-traumatic stress disorder // *Neuron*. – 2016. – Vol. 92, № 1. – P. 14-30.

271 Toda T., Gage, F.H. Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity // *Cell and tissue research*. – 2018. – Vol. 373, № 3. – P. 693–709.

272 Anacker C., Hen R. Adult hippocampal neurogenesis and cognitive flexibility — linking memory and mood // *Nature reviews. Neuroscience*. – 2017. – Vol. 18, № 6. – P. 335-346.

273 Gandy K., Kim S., Sharp C. et al. Pattern separation: a potential marker of impaired hippocampal adult neurogenesis in major depressive disorder // *Frontiers in neuroscience*. – 2017. – Vol. 11. – Article 571. – P. 1-9.

274 Mizukami R., Matsumoto M., Koganezawa T. The lateral habenula regulates stress-related respiratory responses via the monoaminergic system // *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. – 2024. – 10.1007/s00424-024-03043-7. – Advance online publication.

275 Metzger M., Souza R., Lima L.B., et al. Habenular connections with the dopaminergic and serotonergic system and their role in stress-related psychiatric disorders // *The European journal of neuroscience*. – 2021. – Vol. 53, № 1. – P. 65–88.

276 Chang W.L., Hen R. Adult Neurogenesis, Context Encoding, and Pattern Separation: A Pathway for Treating Overgeneralization // *Advances in neurobiology*. – 2024. – Vol. 38. – P. 163–193.

277 Tuncdemir S.N., Lacefield C.O., Hen R. Contributions of adult neurogenesis to dentate gyrus network activity and computations // *Behavioural brain research*. – 2019. – Vol. 374. – Article 112112.

278 Song C., Ehlers V. L., Moyer J.R., Jr Trace Fear Conditioning Differentially Modulates Intrinsic Excitability of Medial Prefrontal Cortex-Basolateral Complex of Amygdala Projection Neurons in Infralimbic and Prelimbic Cortices // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. – 2015. – Vol. 35, № 39. – P. 13511–13524.

279 Negrón-Oyarzo I., Aboitiz F., Fuentealba P. Impaired functional connectivity in the prefrontal cortex: a mechanism for chronic stress-induced neuropsychiatric disorders // *Neural plasticity*. – 2016. – Article 7539065. – P. 1-16.

280 Lingawi N.W., Laurent V., Westbrook R.F., Holmes, N.M. The role of the basolateral amygdala and infralimbic cortex in (re)learning extinction // *Psychopharmacology*. – 2019. – Vol. 236, № 1. – P. 303–312.

281 Joyce M.K.P., Wang J., Barbas H. Subgenual and Hippocampal Pathways in Amygdala Are Set to Balance Affect and Context Processing // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. – 2023. – Vol. 43, № 17. – P. 3061–3080.

282 Babaev O., Piletti Chatain C., Krueger-Burg D. (2018). Inhibition in the amygdala anxiety circuitry // *Experimental & molecular medicine*. – 2018. – Vol. 50, № 4. – P. 1–16.

283 Asim M., Wang H., Waris A., He, J. Basolateral amygdala parvalbumin and cholecystokinin-expressing GABAergic neurons modulate depressive and anxiety-like behaviors // *Translational psychiatry*. – 2024. – Vol. 14, № 1. – Article 418.

284 Guadagno A., Kang M.S., Devenyi G.A., et al. Reduced resting-state functional connectivity of the basolateral amygdala to the medial prefrontal cortex in preweaning rats exposed to chronic early-life stress // *Brain structure & function*. – 2018. – Vol. 223, № 8. – P. 3711–3729.

285 Saha R., Shrivastava K., Jing L., et al. (2018). Perturbation of GABAergic Synapses at the Axon Initial Segment of Basolateral Amygdala Induces Trans-regional Metaplasticity at the Medial Prefrontal Cortex // *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*. – 2018. – Vol. 28, № 1. – P. 395–410.

286 Porter J.T., Sepulveda-Orengo M.T. Learning-induced intrinsic and synaptic plasticity in the rodent medial prefrontal cortex // *Neurobiology of learning and memory*. – 2020. – Vol. 169. – Article 107117.

287 Kanigowski D., Urban-Ciecko J. Conditioning and pseudoconditioning differently change intrinsic excitability of inhibitory interneurons in the neocortex // *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*. – 2024. – Vol. 34, № 4. – Article bhae109.

288 Beyeler A. (2019). Do antidepressants restore lost synapses? // *Science (New York, N.Y.)*. – 2019. – Vol. 364, № 6436. – P. 129–130.

289 Castillo-Gómez E., Pérez-Rando M., Bellés M., Gilabert-Juan J., Llorens J.V., Carceller H., Bueno-Fernández C., García-Mompó C., Ripoll-Martínez B., Curto Y., Sebastiá-Ortega, N., Moltó, M.D., Sanjuan, J., Nacher J. Early Social Isolation Stress and Perinatal NMDA Receptor Antagonist Treatment Induce Changes in the Structure and Neurochemistry of Inhibitory Neurons of the Adult Amygdala and Prefrontal Cortex // *eNeuro*. – 2017. – Vol. 4, № 2. – Article ENEURO.0034-17.2017.

290 Bączyńska E., Pels K.K., Basu S., Włodarczyk J., Ruszczycki B. Quantification of Dendritic Spines Remodeling under Physiological Stimuli and in Pathological Conditions // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 8. – Article 4053.

291 Evangelisti C., Chiarini F., Paganelli F., Marmioli S., Martelli, A.M. Crosstalks of GSK3 signaling with the mTOR network and effects on targeted therapy of cancer // *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*. – 2020. – Vol. 1867, № 4. – Article 118635.

292 Vose L.R., Stanton, P.K. Synaptic plasticity, metaplasticity and depression // *Current neuropharmacology*. – 2017. – Vol. 15, № 1. – P. 71–86.

293 Bączyńska, E., Zaręba-Kozioł, M., Ruszczycki, B., et al. Stress resilience is an active and multifactorial process manifested by structural, functional, and molecular changes in synapses // *Neurobiology of stress*. – 2024. – Vol. 33. – Article 100683.

294 Duman R.S., Aghajanian G.K., Sanacora G., Krystal, J.H. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants // *Nature medicine*. – 2016. – Vol. 22, № 3. – P. 238–249.

295 Chen J., Wei Y., Li N., et al. Preliminary Investigation Into the Antidepressant Effects of a Novel Curcumin Analogue (CACN136) In Vitro and In Vivo // *Molecular neurobiology*. – 2024. – 10.1007/s12035-024-04363-6. Advance online publication.

296 Yi E.S., Oh S., Lee J.K. et al. Chronic stress-induced dendritic reorganization and abundance of synaptosomal PKA-dependent CP-AMPA receptor in the basolateral amygdala in a mouse model of depression // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2017. – Vol. 486, № 3. – P. 671–678.

297 Zhang X., Ge T.T., Yin G. et al. Stress-Induced Functional Alterations in Amygdala: Implications for Neuropsychiatric Diseases // *Frontiers in neuroscience*. – 2018. – Vol. 12. – Article. 367. – P. 1-9.

298 MedElement. – Клинические протоколы МЗ РК. – Версия: Клинические протоколы МЗ РК - 2017 (Казахстан). – Раздел медицины: Психиатрия. – Реакция на стресс. – URL: <https://diseases.medelement.com/disease/%D1%80%D0%B5%D0%B0%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F-%D0%BD%D0%B0-%D1%81%D1%82%D1%80%D0%B5%D1%81%D1%81-2017/15428> (дата обращения 29.06.2023).

299 MedElement. – Клинические протоколы МЗ РК. – Версия: Клинические протоколы МЗ РК. – 2018 (Казахстан). – Раздел медицины: Неврология. – Невротические, связанные со стрессом, соматоформные расстройства. – URL: <https://diseases.medelement.com/disease/%D0%BD%D0%B5%D0%B2%D1%80%D0%BE%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5-%D1%81%D0%B2%D1%8F%D0%B7%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D1%81%D0%BE-%D1%81%D1%82%D1%80%D0%B5%D1%81%D1%81%D0%BE%D0%BC-%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D1%80%D0%B0%D1%81%D1%81%D1%82%D1%80%D0%BE%D0%B9%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B0-2018/16012> (дата обращения 29.06.2023).

300 Depression in adults: treatment and management. NICE Guideline. No. 222. – London: National Institute for Health and Care Excellence. – 2022. – 103p. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK583074/> (дата обращения 29.06.22).

301 Naguy A., Alamiri B. Antidepressants-A Misnomer? Clinical Impressionism or Scientific Empiricism? // *The primary care companion for CNS disorders*. – 2022. – Vol. 24, № 3. – Article 21br03084.

302 Fasipe O.J. Neuropharmacological Classification of Antidepressant Agents Based on their Mechanisms of Action // Archives of Medicine and Health Sciences. – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. 81-94.

303 Stahl S.M. Prescriber's Guide: Stahl's Essential Psychopharmacology /Editors: S.M. Stahl, M.M. Grady – 6th ed – Cambridge: Cambridge University Press, 2020. – 944 p.

304 Harmer C.J., Duman R.S., Cowen, P.J. How do antidepressants work? New perspectives for refining future treatment approaches // The lancet. Psychiatry. – 2017. – Vol. 4, № 5. – P. 409–418.

305 Morris N.P. Injustice Disorder // The New England journal of medicine. – 2022. – Vol. 387, № 22. – P. 2017–2019.

306 Munkholm K., Paludan-Müller A.S., Boesen K. Considering the methodological limitations in the evidence base of antidepressants for depression: a reanalysis of a network meta-analysis // BMJ Open. – 2019. – Vol. 9, № 6. – Article e024886. – P. 1-9.

307 Hengartner M.P., Jakobsen J.C., Sørensen A. et al. Efficacy of new-generation antidepressants assessed with the Montgomery-Asberg Depression Rating Scale, the gold standard clinician rating scale: A meta-analysis of randomised placebo-controlled trials // PLoS ONE. – 2020. – Vol. 15, № 2. - Article e0229381. – P. 1-11.

308 Cipriani A., Furukawa T.A., Salanti G., et al. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis // Lancet. – 2018. – Vol. 391. – Article 10128. – P. 1357–1366.

309 Stone M.B., Yaseen Z.S., Miller B.J. et al. Response to acute monotherapy for major depressive disorder in randomized, placebo controlled trials submitted to the US Food and Drug Administration: individual participant data analysis // BMJ (Clinical research ed.). – 2022. – Vol. 378. – Article e067606. – P. 1-9.

310 Hengartner M.P., Plöderl M. Statistically Significant Antidepressant-Placebo Differences on Subjective Symptom-Rating Scales Do Not Prove That the Drugs Work: Effect Size and Method Bias Matter! // Frontiers in psychiatry. – 2018. – Vol. 9. – Article 517. – P. 1-5.

311 Kirsch I. Placebo Effect in the Treatment of Depression and Anxiety // Frontiers in psychiatry. – 2019. – Vol. 10. – Article 407. – P. 1-9.

312 Read J., Moncrieff J. Depression: why drugs and electricity are not the answer // Psychological medicine. – 2022. – Vol. 52, № 8. – P. 1401–1410.

313 Hengartner M.P., Plöderl M. False Beliefs in Academic Psychiatry: The Case of Antidepressant Drugs // Ethical Human Psychology and Psychiatry. – 2018. – Vol. 20, № 1. – P. 6–16.

314 Munkholm K., Paludan-Müller A.S., Boesen K. Considering the methodological limitations in the evidence base of antidepressants for depression: a reanalysis of a network meta-analysis // BMJ Open. – 2019. – Vol. 9, № 6. – Article e024886. – P. 1-9.

315 Hengartner M.P., Jakobsen J.C., Sørensen A. et al. Efficacy of new-generation antidepressants assessed with the Montgomery-Asberg Depression Rating

Scale, the gold standard clinician rating scale: A meta-analysis of randomised placebo-controlled trials // PLoS ONE. – 2020. – Vol. 15, № 2. - Article e0229381. – P 1-11.

316 Cipriani A., Furukawa T.A., Salanti G. et al. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis // Lancet (London, England). – 2018. – Vol. 391. – Article 10128. – P. 1357–1366.

317 Stone M.B., Yaseen Z.S., Miller B.J. et al. Response to acute monotherapy for major depressive disorder in randomized, placebo controlled trials submitted to the US Food and Drug Administration: individual participant data analysis // BMJ (Clinical research ed.). – 2022. – Vol. 378. - Article e067606. – P. 1-9.

318 Hengartner M.P. Is there a genuine placebo effect in acute depression treatments? A reassessment of regression to the mean and spontaneous remission // BMJ evidence-based medicine. – 2020. – Vol. 25, № 2. – P. 46–48.

319 Stein D.J., Rouillon F., Maercker A. New perspectives on adjustment disorder // The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry. – 2018. – Vol. 19. – Sup.1. – S1–S2.

320 Бизунок Н.А. Антидепрессанты: учебно-методическое пособие / Н.А. Бизунок, А.В. Гайдук– Минск: БГМУ, 2017. – 26 с.

321 Yan R., Cai H., Cui Y. et al. Comparative efficacy and safety of monoamine oxidase type B inhibitors plus channel blockers and monoamine oxidase type B inhibitors as adjuvant therapy to levodopa in the treatment of Parkinson's disease: a network meta-analysis of randomized controlled trials // European journal of neurology. – 2023. – Vol. 30, № 4. – P. 1118-1134.

322 Youdim M.B.H. Monoamine oxidase inhibitors, and iron chelators in depressive illness and neurodegenerative diseases // Journal of neural transmission. – 2018. – Vol. 125, № 11. – P. 1719-1733.

323 Finberg J.P.M., Rabey J.M. Inhibitors of MAO-A and MAO-B in Psychiatry and Neurology // Frontiers in Pharmacology. – 2016. – Vol.7. – Article 340. – P. 1-15.

324 Kadyan P., Singh L. Unraveling the mechanistic interplay of mediators orchestrating the neuroprotective potential of harmine // Pharmacological reports : PR. – 2024. – Vol. 76, № 4. – P. 665–678.

325 Sub Laban T., Saadabadi A. Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOI) / T. Sub Laban, A. Saadabadi [Internet] Last Update: July 17, 2023. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539848/> (дата обращения 29.06.2023).

326 Amssayef A., Eddouks M. Alkaloids as Vasodilator Agents: A Review // Current pharmaceutical design. – 2023. – Vol. 29, № 24. – P. 1886–1895.

327 Egger K., Aicher H. D., Cumming P., Scheidegger M. Neurobiological research on N,N-dimethyltryptamine (DMT) and its potentiation by monoamine oxidase (MAO) inhibition: from ayahuasca to synthetic combinations of DMT and MAO inhibitors // Cellular and molecular life sciences : CMLS. – 2024. – Vol. 81, № 1. – P. 395.

328 Berlowitz I., Egger K., Cumming P. Monoamine Oxidase Inhibition by Plant-Derived β -Carbolines; Implications for the Psychopharmacology of Tobacco and Ayahuasca // Frontiers in pharmacology. – 2022. – Vol. 13. – Article 886408.

329 Guo Y., Xu L., Ling C., et al. Novel β -carboline-based indole-4,7-quinone derivatives as NAD(P)H: Quinone-oxidoreductase-1 inhibitor with potent antitumor activities by inducing reactive oxygen species, apoptosis, and DNA damage // *Chemical biology & drug design*. – 2020. – Vol. 96, № 6. – P. 1433–1446.

330 Miao J. F., Peng Y. F., Chen S., et al. A novel harmine derivative, N-(4-(hydroxycarbamoyl)benzyl)-1-(4-methoxyphenyl)-9H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxamide (HBC), as histone deacetylase inhibitor: in vitro antiproliferation, apoptosis induction, cell cycle arrest, and antimetastatic effects // *European journal of pharmacology*. – 2018. – Vol. 824. – P. 78–88.

331 Nurmaganbetov Z.S., Arystan L.I., Muldaeva G.M. et al. Experimental study of antiparkinsonian action of the harmine hydrochloride original compound // *Pharmacological reports*. – 2019. – Vol. 71, № 6. – P. 1050–1058.

332 Доскалиев А.Ж., Епифанцева Е.В., Жанымханова П.Ж. и др. Влияние гармина гидрохлорида на двигательное и психоэмоциональное состояние при экспериментальном паркинсонизме // *Нейрохирургия и неврология Казахстана*. – 2020. – №3(60). – С.46-55.

333 Lee K.H., Won S.J., Oyinloye P., Shi, L. Unlocking the Potential of High-Quality Dopamine Transporter Pharmacological Data: Advancing Robust Machine Learning-Based QSAR Modeling. *bioRxiv* : the preprint server for biology. – 2024. – 2024.03.06.583803. <https://doi.org/10.1101/2024.03.06.583803>

334 Tan J., Xiao Y., Kong F., et al. Molecular basis of human noradrenaline transporter reuptake and inhibition. *Nature*. – 2024. – Vol. 632, № 8026. – P. 921–929.

335 Zhang H., Yin Y.L., Dai A., et al. Dimerization and antidepressant recognition at noradrenaline transporter // *Nature*. – 2024. – Vol. 630, № 8015. – P. 247–254.

336 Drugs.com. – URL: <https://www.drugs.com/amitriptyline.html> (дата обращения 02.02.2019).

337 EMC. – Amitriptyline 50 mg Film-Coated Tablets. – URL: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/10851/smpc> (дата обращения 09.01.2019).

338 Top 100 drugs: clinical pharmacology and practical prescribing / A. Hitchings, D. Lonsdale, D. Burrage et al. – Churchill Livingstone: Elsevier, 2015. – 275 p.

339 Alam U., Sloan G., Tesfaye S. Treating Pain in Diabetic Neuropathy: Current and Developmental Drugs // *Drugs*. – 2020. – Vol. 80, № 4. – P. 363–384.

340 Macfarlane G.J., Kronisch C., Dean L.E., et al. EULAR revised recommendations for the management of fibromyalgia // *Annals of the rheumatic diseases*. – 2017. – Vol. 76, № 2. – P. 318–328.

341 Oskoui, M., Pringsheim, T., Billingshurst, L., et al. Practice guideline update summary: Pharmacologic treatment for pediatric migraine prevention: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Headache Society // *Neurology*. – 2019. – Vol. 93, № 11. – P. 500–509.

342 Tfelt-Hansen P., Agesen F.N., Pavbro A. et al. Pharmacokinetic Variability of Drugs Used for Prophylactic Treatment of Migraine // *CNS Drugs*. – 2017. – Vol. 31, № 5. – P. 389–403.

343 López-Muñoz F., D'Ocón P., Romero A., Guerra J. A., Álamo C. Role of serendipity in the discovery of classical antidepressant drugs: Applying operational criteria and patterns of discovery // *World journal of psychiatry*. – 2022. – Vol. 12, № 4. – P. 588–602.

344 Organization WH. World Health Organization model list of essential medicines: 22nd list hdl:10665/345533. WHO/MHP/HPS/EML/2021.02. – Geneva: World Health Organization. – 2021. – URL: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2021.02> (дата обращения: 12.02.2024)

345 Drugs.com. – Amitriptyline Hydrochloride. – The American Society of Health-System Pharmacists. – URL: <https://www.drugs.com/amitriptyline.html> (дата обращения: 21.02.2024).

346 Kane S.P. The Top 300 of 2021 // *ClinCalc DrugStats Database*. Version 2024.01. URL: <https://clincalc.com/DrugStats/Top300Drugs.aspx?ref=gokick.com> (дата обращения: 12.02.2024)

347 Kane S.P. Amitriptyline, *ClinCalc DrugStats Database*. – Version 2024.01. – URL: <https://clincalc.com/DrugStats/Drugs/Amitriptyline> (дата обращения 12.01.2024)

348 Гарибова Т.Л., Крайнева В.А., Воронина Т.А. Поведенческие экспериментальные модели депрессии // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2017. – №3. – С. 14-19.

349 Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage // *Neurobiology of Stress*. – 2017. – Vol 6. – P. 78-93.

350 Howland J.G., Greenshaw A.J., Winship I.R. Practical Aspects of Animal Models of Psychiatric Disorders // *Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie*. – 2019. – Vol. 64, № 1. – P. 3–4.

351 Zhao H., Zhou M., Liu Y., Jiang J., Wang Y. Recent advances in anxiety disorders: Focus on animal models and pathological mechanisms // *Animal models and experimental medicine*. – 2023. – Vol. 6, № 6. – P. 559–572.

352 Miller C.J., Smith S.N., Pugatch M. Experimental and quasi-experimental designs in implementation research // *Psychiatry research*. – 2020. – Vol. 283. – Article 112452. – P. 1-7.

353 Sjoberg E. A. Logical fallacies in animal model research // *Behavioral and brain functions : BBF*. – 2017. – Vol. 13, № 1. – P. 1-3.

354 Donaldson Z.R., Hen R. From psychiatric disorders to animal models: a bidirectional and dimensional approach // *Biological psychiatry*. – 2015. – Vol. 77, № 1. – P. 15–21.

355 Cope Z.A., Powell S.B., Young J.W. Modeling neurodevelopmental cognitive deficits in tasks with cross-species translational validity // *Genes, brain, and behavior*. – 2016. – Vol. 15, № 1. – P. 27–44.

356 Patrick C. J., Hajcak G. RDoC: Translating promise into progress // *Psychophysiology*. – 2016. – Vol. 53, № 3. – P. 415–424.

357 Tozzi L., Farrell C., Booij L., Doolin K., Nemoda Z., Szyf M., Pomares F.B., Chiarella J., O'Keane V., Frodl T. Epigenetic Changes of FKBP5 as a Link Connecting Genetic and Environmental Risk Factors with Structural and Functional Brain Changes in Major Depression // *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. – 2018. – Vol. 43, № 5. – P. 1138–1145.

358 Willner P. Reliability of the chronic mild stress model of depression: A user survey // *Neurobiology of Stress*. – 2017. – Vol. 6. – P. 68-77.

359 Ostrowska-Leśko M., Herbet M., Pawłowski K., Korga-Plewko A., Poleszak E., Dudka, J. Pathological Changes and Metabolic Adaptation in the Myocardium of Rats in Response to Chronic Variable Mild Stress // *International journal of molecular sciences*. – 2024. – Vol. 25, № 11. – Article 5899.

360 «Метод формирования стресс-индуцированных расстройств в эксперименте у животных» / Свидетельство о внесении в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом. – Производство науки – № 7372. – 30.12.2019 г.

361 Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под редакцией Р. У. Хабриева – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

362 Kraeuter A.K., Guest P.C., Sarnyai Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents // *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.). – 2019. – Vol. 1916. – P. 69–74.

363 Капышева У.Н., Бахтиярова Ш.К., Баимбетова А.К. и др. Влияние мононуклеаров на когнитивные функции в разные сроки после трансплантации // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2015. – № 9(2). – С. 279–283.

364 Kraeuter A.K., Guest P.C., Sarnyai Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior // *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.). – 2019. – Vol. 1916. – P. 99–103.

365 Дрецинский В.А. Методология научных исследований: учебник для ВУЗов / В.А.Дрецинский. — М.: Юрарайт, 2021. — 222 с.

366 Котельникова С. О. Изучение нейрорепродуктивных свойств димерного дипептидного миметика фактора роста нервов человека. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук: 14.03.06. – Москва, 2016. – 145 с.

367 Liu M.Y., Yin C.Y., Zhu L.J., Zhu X.H., Xu C., Luo C.X., Chen H., Zhu D.Y., Zhou Q.G. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice // *Nature protocols*. – 2018. – Vol. 13, № 7. – P. 1686–1698.

368 Rasouli Vani J., Taghi Mohammadi M., Sarami Foroshani M. et al. Evaluation of the neuroprotective and antioxidant effects of *Dorema aucheri* extract on cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats // *Pharmaceutical Biology*. – 2019. – Vol. 57, № 1. – P. 255–262.

369 Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction // *Analytical biochemistry*. – 1979. – Vol. 95, № 2. – P. 351-358.

370 Cabrera-Pérez L.C., Padilla-Martínez I.I., Cruz A. et al. Evaluation of a new benzothiazole derivative with antioxidant activity in the initial phase of acetaminophen toxicity // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2019. – Vol. 12, № 8. – P. 3871-3882.

371 Cabrera-Pérez L.C., Padilla-Martínez I.I., Cruz A. et al. Design, synthesis, molecular docking and in vitro evaluation of benzothiazole derivatives as 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors. // *Molecular diversity*. – 2020. – Vol. 24, № 4. – P. 1-14.

372 Гончаренко М.С., Латыпова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // *Лабораторное дело*. – 1985. – № 1. – С. 60–61.

373 Levine K.B., Cloherty E.K., Fidyk N.J. et al. Structural and physiologic determinants of human erythrocyte sugar transport regulation by adenosine triphosphate // *Biochemistry*. – 1998. – Vol. 37, № 35. – P. 12221 – 12232.

374 Коробейникова Э.Н. Малоновый диальдегид в плазме. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // *Лабораторное дело*. – 1989. – № 7. – С. 8–10.

375 Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // *Методические рекомендации*. – Санкт-Петербург.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.

376 Levine R.L., Williams J.A., Stadtman E.R. et al. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins // *Methods Enzymology*. – 1994. – Vol. 233. – P. 346-357.

377 Loscalo J. The oxidant stress of hyperhomocysteinemia // *The Journal of clinical investigation*. – 1996. – Vol. 98, № 1. – P. 5–7.

378 Вистерничан О.А. Диссертация на соискание степени доктора философии (PhD): 6D110100 – Медицина. — Карагандинский государственный медицинский университет. — Караганда: 2018. — 95 с.

379 Орешников Е.В., Орешникова С.Ф. Пурины крови и ликвора у беременных // *Анестезиология и реаниматология*. – 2015. – № 4. – С. 29-33.

380 Токтамысова З.С., Биржанова Н.Х. О мембраносвязанном гемоглобине // *Биофизика*. – 1990. – Т. 35, № 6. – С. 1019 – 1020.

381 Biswas U.K., Banerjee S., Das A. et al. Elevation of serum methylglyoxal may be used as a screening marker in oral premalignant lesions // *Biomedical Research*. – 2011. – Vol. 22, № 3. – P. 273-278.

382 Husna A.H., Ramadhani E.A., Eva D.T. et al. The Role Formation of Methylglyoxal, Carbonyl Compound, Hydrogen Peroxide and Advance Oxidation Protein Product Induced Cadmium in Ovarian Rat // *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. – 2014. – Vol. 5, №4. – P. 319-323.

383 Тусупбекова М.М. – Клиническая патоморфология / М.М. Тусупбекова. – Алматы: Изд-во «Эверо», 2017. – 184с.

384 Allgoewer A., Mayer B. Sample size estimation for pilot animal experiments by using a Markov Chain Monte Carlo approach // *Altern Lab Anim*. – 2017. – May. – Vol. 45, №2. – P. 83-90.

385 Razali N.M., Wah Y.B. Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests // *Journal of Statistical Modeling and Analytics*. – 2011. Vol.2, № 1. – P. 21-33.

386 Iqbal T., Elahi A., Wijns W. et al. Cortisol detection methods for stress monitoring in connected health // *Health Sciences Review*. – 2023. – Vol. 6. – Article 100079. – P. 1-14.

387 Chen X., Gianferante D., Hanlin L., Fiksdal A., Breines J.G., Thoma M.V., Rohleder N. HPA-axis and inflammatory reactivity to acute stress is related with basal HPA-axis activity // *Psychoneuroendocrinology*. – 2017. – Vol. 78. – P. 168–176.

388 Degering M., Linz R., Puhmann L.M.C., Singer T., Engert V. Revisiting the stress recovery hypothesis: Differential associations of cortisol stress reactivity and recovery after acute psychosocial stress with markers of long-term stress and health // *Brain, behavior, & immunity – health*. – 2023. – Vol. 28. – Article 100598.

389 Kitov B., Epifanceva E., Asenova R., Kitova T. Stress and Its Importance for the Human Body // *General Medicine*. – 2020. – Vol.22, № 6. – P. 74-81.

390 Yepifantseva Y.V., Muravlyova L.Y., Semenikhina P.S. et al. The Level of Reactive Carbonyl Derivatives of Proteins, Methylglyoxal, and Malondialdehyde in Rats Experiencing Chronic Unpredictable Moderate Stress // *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020 – Vol. 8. – Charpet A. – P.266-272.

391 Епифанцева Е.В., Муравлева Л.Е., Абдрахманова М.Г., Семенихина П.С. К проблеме моделирования стрессовых расстройств в эксперименте на животных // *Медицина и экология*. – 2019. - №4 (93). – С. 78-84.

392 Епифанцева Е.В., Романова М.А., Сейдахметова Р.Б. и др. Влияние гармина гидрохлорида на поведенческие реакции крыс с моделью стресс-индуцированного расстройства // *Медицина и экология*. – 2020. - №1 (94). – С. 77-87.

393 Yepifantseva Y.V., Abdrakhmanova M.G., Pozdnyakova Y.V. et al. The Level of Reactive Carbonyl Derivatives of Proteins, Malondialdehyde, and Catalase Activity in the Brain of Rats after Therapy Following Chronic Unpredictable Moderate Stress. // *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020 – Vol. 8. – Charpet A. – P.691-698.

394 Yepifantseva Y.V. Plasma cortisol level in rats with chronic unpredictable moderate stress model. / *International Scientific Conference «Scientific research of the SCO countries: synergy and integration» Beijing, China*. – 2019. – С. 100-106. – ISBN 978-5-905695-51-3.

395 Епифанцева Е.В. Некоторые показатели окислительного метаболизма у крыс с моделью хронического непредсказуемого умеренного стресса / *Fundamental and applied scientific research (ICFARS) // Сборник научных трудов International Scientific and Practical Conference RELF Group&OEAPS Inc.* – Берлин, Германия.: OEAPS Inc. – 2019. – С. 30-40. – ISBN: 9781708840372

Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

СВИДЕТЕЛЬСТВО
О ВНЕСЕНИИ СВЕДЕНИЙ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР ПРАВ НА ОБЪЕКТЫ, ОХРАНЯЕМЫЕ АВТОРСКИМ ПРАВОМ

№ 7372 от «30» декабря 2019 года

Фамилия, имя, отчество, (если оно указано в документе, удостоверяющем личность) автора (ов):
ЕПИФАНЦЕВА ЕЛЕНА ВАЛЕРИЕВНА

Вид объекта авторского права: **произведение науки**

Название объекта: **Метод формирования стресс-индуцированных расстройств в эксперименте у животных.**

Дата создания объекта: **13.09.2019**





Құжат түпнұсқаныңың <http://www.kazpatent.kz/ru/saytynyñ/kazpatent.kz>
қолжеткізілетіндігі туралы мәліметтерді қарау үшін
қосымша <https://copyright.kazpatent.kz>
е разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

ЭЦП К.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы № 24

УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной и клинической
работе НАО «КМУ»
Пургунов Е.М.,
2024 г.



Акт
внедрения результатов
научно-исследовательской работы № 24
Научно-исследовательская лаборатория
НАО «Карагандинский медицинский университет»

Наименование предложения: «Метод формирования стресс-индуцированных расстройств в эксперименте у животных»

Работа включена: в перечень методик Научно-исследовательской лаборатории НАО «КМУ».

Форма внедрения: метод для научных исследований.

Ответственный за внедрение и исполнители: Марченко А.Б.

Работа выполнена в рамках диссертационной работы «Оценка молекулярно-клеточных изменений при хроническом стрессе и на фоне фармакологической коррекции. Экспериментальное исследование»

Эффективность внедрения: научно-исследовательская.

Предложения и замечания учреждения, осуществляющего внедрения

Сроки внедрения: Сентябрь-декабрь 2024г.

Председатель комиссии:

Зав. НИЛ НАО «КМУ»

PhD

Члены ответственные за внедрение:

с.н.с. НИЛ НАО «КМУ»

PhD

Стажер-исследователь

НИЛ НАО «КМУ»


Лавриненко А.В.


Марченко А.Б.


Солянов Д.А.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы № 36

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по академической работе
НАО «КМУ»
Толубеков К.К.
2024 г.



Акт
внедрения результатов
научно-исследовательской работы № 36
Кафедра клинической фармакологии и доказательной медицины
НАО «Карагандинский медицинский университет»

Наименование предложения: Динамика молекулярных изменений при фармакологической коррекции стресс-индуцируемых расстройств
Работа включена: в материал по дисциплине: «Клиническая фармакология-1» для резидентов специальности «Клиническая фармакология» 1 года обучения.
Форма внедрения: рекомендации.

Ответственный за внедрение и исполнители: Калиева Ш.С., Жаугашева С.К., Дюсембаева Н.К., Сыздикова Ж.В., Работа выполнена в рамках диссертационной работы «Оценка молекулярно-клеточных изменений при хроническом стрессе и на фоне фармакологической коррекции. Экспериментальное исследование»

Эффективность внедрения: образовательная.

Предложения и замечания учреждения, осуществляющего внедрения

Сроки внедрения: Сентябрь-декабрь 2024г.

Председатель комиссии:
Зав. Кафедрой клинической фармакологии
и доказательной медицины

Калиева Ш.С.

Члены ответственные за внедрение:
Профессор кафедры
клинической фармакологии
и доказательной медицины НАО «КМУ»

Жаугашева С.К.

Ассоциированный профессор кафедры
клинической фармакологии
и доказательной медицины
НАО «КМУ»

Дюсембаева Н.К.

Ассистент профессора кафедры
клинической фармакологии
и доказательной медицины НАО «КМУ»

Сыздикова Ж.В.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д
Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы №31

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной и клинической
работе НАО «КМУ»
Тургунов, Г.М.
« 21 » 2024 г.



Акт
внедрения результатов
научно-исследовательской работы №
Клиника медицинского университета
НАО «Карагандинский медицинский университет»

Наименование предложения: Оценка динамики изменения клиничко-биохимических параметров у пациентов при фармакологической коррекции стресс-индуцируемых расстройств
Работа включена: в план диагностики
Форма внедрения: рекомендации

Ответственный за внедрение и исполнители: Молотов-Лучанский В.Б., Рахимбеков Т.Т., Байжуманова А.Н. Работа выполнена в рамках диссертационной работы «Оценка молекулярно-клеточных изменений при хроническом стрессе и на фоне фармакологической коррекции. Экспериментальное исследование» Елифанцевой Е.В.

Эффективность внедрения: клиническая.

Предложения и замечания учреждения, осуществляющего внедрения

Сроки внедрения: Ноябрь 2024г.

Председатель комиссии:
Главный врач _____ Бобырев С.С.



Члены ответственные за внедрение:
Главный терапевт _____ Молотов-Лучанский В.Б.

Заведующий блоком анестезиологии,
Реанимации и трансфузиологии _____ Рахимбеков Т.Т.

Врач лаборант _____ Байжуманова А.Н.

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Система кодирования биологического материала участников 1 серии

№	День эксперимента					
	0	7	14	22	22	22
	1 забор крови для биохимических исследований	2 забор крови для исследования уровня кортизола	3 забор крови для исследования уровня кортизола	4 забор крови для биохимических исследований	Гистологический анализ мозга	Биохимический анализ мозга
1	VCh-01.1	VCh-01.2	VCh-01.3	VCh-01.4	His-01	Vch-B-01
2	VCh-02.1	VCh-02.2	VCh-02.3	VCh-02.4	His-02	Vch-B-02
3	VCh-03.1	VCh-03.2	VCh-03.3	VCh-03.4	His-03	Vch-B-03
4	VCh-04.1	VCh-04.2	VCh-04.3	VCh-04.4	His-04	Vch-B-04
5	VCh-05.1	VCh-05.2	VCh-05.3	VCh-05.4	His-05	Vch-B-05
6	VCh-06.1	VCh-06.2	VCh-06.3	VCh-06.4	His-06	Vch-B-06
7	VCh-07.1	VCh-07.2	VCh-07.3	VCh-07.4	His-07	Vch-B-07
8	VCh-08.1	VCh-08.2	VCh-08.3	VCh-08.4	His-08	Vch-B-08
9	VCh-09.1	VCh-09.2	VCh-09.3	VCh-09.4	His-09	Vch-B-09
10	VCh-10.1	VCh-10.2	VCh-10.3	VCh-10.4	His-10	Vch-B-10
11	VCh-11.1	VCh-11.2	VCh-11.3	VCh-11.4	His-11	Vch-B-11
12	VCh-12.1	VCh-12.2	VCh-12.3	VCh-12.4	His-12	Vch-B-12
13	VCh-13.1	VCh-13.1	VCh-13.3	VCh-13.4	His-13	Vch-B-13
14	VCh-14.1	VCh-14.2	VCh-14.3	VCh-14.4	His-14	Vch-B-14
15	VCh-15.1	VCh-15.2	VCh-15.3	VCh-15.4	His-15	Vch-B-15
16	VCh-16.1	VCh-16.2	VCh-16.3	VCh-16.4	His-16	Vch-B-16
17	VCh-17.1	VCh-17.2	VCh-17.3	VCh-17.4	His-17	Vch-B-17
18	VCh-18.1	VCh-18.2	VCh-18.3	VCh-18.4	His-18	Vch-B-18
19	VCh-19.1	VCh-19.2	VCh-19.3	VCh-19.4	His-19	Vch-B-19
20	VCh-20.1	VCh-20.2	VCh-20.3	VCh-20.4	His-20	Vch-B-20

Примечание – Маркировка «VCh-n.m» (например, VCh-01.1)

Где:

VCh- сокращенная аббревиатура исследования – Biochemistry,

n (01)- номер участника эксперимента, m (1) –номер точки отбора крови.

1–10 – группа контроля, 11–20 – группа ХНУС

VCh-B – Biochemistry Brain, His - Hystology

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж
Система кодирования биологического материала участников 2 серии

	День эксперимента				
	0	22	43	43	43
№ уч аст ни к а	1 забор крови для биохимичес ких исследован ий	2 забор крови для биохимическ их исследований	3 забор крови для биохимичес ких исследовани й	Гистологиче ский анализ мозга	Биохимичес кий анализ мозга
21	VCh-21.1	VCh-21.2	VCh-21.3	His-21	Vch-B-21
22	VCh-22.1	VCh-22.2	VCh-22.3	His-22	Vch-B-22
23	VCh-23.1	VCh-23.2	VCh-23.3	His-23	Vch-B-23
24	VCh-24.1	VCh-24.2	VCh-24.3	His-24	Vch-B-24
25	VCh-25.1	VCh-25.2	VCh-25.3	His-25	Vch-B-25
26	VCh-26.1	VCh-26.2	VCh-26.3	His-26	Vch-B-26
27	VCh-27.1	VCh-27.2	VCh-27.3	His-27	Vch-B-27
28	VCh-28.1	VCh-28.2	VCh-28.3	His-28	Vch-B-28
29	VCh-29.1	VCh-29.2	VCh-29.3	His-29	Vch-B-29
30	VCh-30.1	VCh-30.2	VCh-30.3	His-30	Vch-B-30
31	VCh-31.1	VCh-31.2	VCh-31.3	His-31	Vch-B-31
32	VCh-32.1	VCh-32.2	VCh-32.3	His-32	Vch-B-32
33	VCh-33.1	VCh-33.2	VCh-33.3	His-33	Vch-B-33
34	VCh-34.1	VCh-34.2	VCh-34.3	His-34	Vch-B-34
35	VCh-35.1	VCh-35.2	VCh-35.3	His-35	Vch-B-35
36	VCh-36.1	VCh-36.2	VCh-36.3	His-36	Vch-B-36
37	VCh-37.1	VCh-37.2	VCh-37.3	His-37	Vch-B-37
38	VCh-38.1	VCh-38.2	VCh-38.3	His-38	Vch-B-38
39	VCh-39.1	VCh-39.2	VCh-39.3	His-39	Vch-B-39
40	VCh-40.1	VCh-40.2	VCh-40.3	His-40	Vch-B-40
41	VCh-41.1	VCh-41.2	VCh-41.3	His-41	Vch-B-41
42	VCh-42.1	VCh-42.2	VCh-42.3	His-42	Vch-B-42
43	VCh-43.1	VCh-43.2	VCh-43.3	His-43	Vch-B-43
44	VCh-44.1	VCh-44.2	VCh-44.3	His-44	Vch-B-44
45	VCh-45.1	VCh-45.2	VCh-45.3	His-45	Vch-B-45
46	VCh-46.1	VCh-46.2	VCh-46.3	His-46	Vch-B-46
47	VCh-47.1	VCh-47.2	VCh-47.3	His-47	Vch-B-47

48	BCh-48.1	BCh-48.2	BCh-48.3	His-48	Bch-B-48
49	BCh-49.1	BCh-49.2	BCh-49.3	His-49	Bch-B-49
50	BCh-50.1	BCh-50.2	BCh-50.3	His-50	Bch-B-50

Примечание – Маркировка «BCh-n.m» (например, BCh-21.1),

Где:

BCh- сокращенная аббревиатура исследования – Biochemistry,

n (21)- номер участника эксперимента, m (1) –номер точки отбора крови.

21–30 – плацебо, 31–40 – гармина гидрохлорид, 41–50 – амитриптилин.

BCh-B – Biochemistry Brain

His - Hystology