

На правах рукописи

БЕЗНИН

ГЛЕБ ВЛАДИМИРОВИЧ

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ НАРУШЕНИЙ
ПОВЕДЕНИЯ НА МОДЕЛИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО
СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА У КРЫС**

03.03.01 – Физиология;

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук.

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор
доктор медицинских наук

Цикунов Сергей Георгиевич;
Коржевский Дмитрий Эдуардович.

Официальные оппоненты:

Ганapolьский Вячеслав Павлович, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Научно-исследовательский центр, начальник Научно-исследовательского отдела обитаемости и профессионального отбора;
Прошин Сергей Николаевич, доктор медицинских наук, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент Кафедры фармакологии.

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится « » _____ 2014 г. в ____ ч на заседании Диссертационного совета Д 001.022.03 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук по адресу: Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12.

Ознакомиться с диссертацией можно в Научной библиотеке ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН.

Автореферат диссертации разослан « » _____ 2014 г.

Учёный секретарь
Диссертационного совета,
доктор биологических наук

Л. К. Хныченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Широкое распространение насилия и учащение техногенных катастроф в современном мире делают всё более актуальным изучение последствий переживания психотравмирующих обстоятельств, а также разработку адекватных методов лечения постстрессовых расстройств. Известно, что экстремальные психогенные воздействия могут приводить к формированию специфических поведенческих отклонений и нарушений психики (Грачева Л. В., 2012), в частности, — классифицированного в МКБ-10 и DSM-5 посттравматического стрессового расстройства (ПТСР). Большинство исследований по проблеме стресса связано с изучением острой стрессовой реакции. Работы, касающиеся отдалённых последствий стресса, встречаются в литературе значительно реже.

Существуют исследования, посвящённые изучению биологических основ постстрессовых нарушений (Ehlert U. *et al.*, 1999; Цикунов С. Г. и др., 2000, 2006; Graef F. G., 2003; Tsikunov S. G. *et al.*, 2003, 2010; Heim C., Nemeroff C. B., 2009; Skelton K. *et al.*, 2012). Выявлен ряд генетических маркеров, определяющих риск развития ПТСР (Broekman B. F. *et al.*, 2007; Xie P. *et al.*, 2010). Изучается роль нейроэндокринных механизмов в генезе постстрессовой патологии (Yehuda R., 1999b; Marshall R. D., Garakani A., 2002). Согласно клиническим исследованиям, при ПТСР нередко наблюдаются макроморфологические изменения в головном мозге (Hull A. M., 2002; Karl A. *et al.*, 2006). Установлены отличия в объёме определённых структур мозга у людей, имеющих в анамнезе психотравматические эпизоды, по отношению к здоровым лицам (Richert K. A. *et al.*, 2006; Tischler L. *et al.*, 2006; Geuze E. *et al.*, 2008b). Среди возможных механизмов, лежащих в основе формирования структурных изменений в мозге при постстрессовой патологии, называют гибель нейронов, ремоделинг нервной ткани и нарушение процессов нейрогенеза (Abrous D. N. *et al.*, 2005; Bremner J. D., 2006b; Conrad C. D., 2006; Van Boven R. W. *et al.*, 2009). Однако структурно-функциональные основы ПТСР остаются недостаточно ясными.

Современные методы лечения ПТСР основаны большей частью на применении психотерапевтических воздействий (Слабинский В. Ю., 2012). Психофармакологические методы лечения ПТСР, вследствие недостаточности знаний о его патогенезе, практически не разработаны. Однако уже сегодня в клинической практике для коррекции проявлений ПТСР применяют антидепрессанты (Аведисова А. С., 2009; Frančišković T. *et al.*, 2011), которые, как полагают (Santarelli L. *et al.*, 2003; Bremner J. D., 2006a), способны интенсифицировать нейрогенез в центральной нервной системе (ЦНС). Перспективные фармакотерапевтические разработки связаны с изучением путей модуляции активности различных нейромедиаторных систем.

Проблема изучения механизмов формирования психической травмы и посттравматических стрессовых расстройств упирается в задачу адекватного моделирования этой патологии на животных. В Физиологическом отделе им. И. П. Павлова ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН разработаны модели психической травмы (витальный стресс) и ПТСР на крысах (Цикунов С. Г. и др., 2000, 2005а, 2006; Tsikunov S. G. *et al.*, 2003), индуцируемые обстоятельствами переживания гибели сородича от действий удава и наиболее приближенные по этиологии и симптоматике к данной патологии у человека. В экспериментальных исследованиях демонстрируется возможность формирования поведенческих и эмоциональных отклонений (Августинович Д. Ф. и др., 2006; Трофимова Л. К. и др., 2009), а также функциональных и структурных изменений в мозге (Magariños A. M. *et al.*, 1996; Gould E. *et al.*, 1997; Кудинова Е. В., 2004; Тишкина А. О. и др., 2009) у животных при различных видах стрессовых воздействий. Однако исследования, показывающие формирование подобных нарушений, в особенности структурных, на экспериментальных моделях витального стресса, в литературе практически отсутствуют, а на других моделях психогенных воздействий, приближенных к человеку по критерию этиологии, встречаются исключительно редко.

Степень разработанности темы

В последние годы интенсивно изучаются психофизиологические механизмы острых стрессовых расстройств и ПТСР (Цикунов С. Г. и др., 2012; Skelton K., 2012), ведутся поиски фармакологических средств лечения этих заболеваний (Аведисова А. С., 2009; Frančičković T. *et al.*, 2011). Несмотря на значительные успехи в выяснении механизмов реализации стрессового ответа, большая часть из них остаётся недостаточно изученной (Ушаков И. Б. и др., 2012). Особенно это касается нейробиологических структурно-функциональных основ расстройств эмоций и поведения, вызванных витальным стрессом. Экспериментальных данных об отдалённых последствиях витального стресса в литературе практически нет. Необходимость исследования внутримозговых механизмов формирования и компенсации ПТСР и на этой основе разработки новых эффективных средств терапии посттравматических расстройств определяет фундаментальную и практическую значимость изучения данной патологии на валидных моделях в экспериментах на животных.

Цель исследования

Выявить и охарактеризовать отклонения в поведении и структурные изменения в мозге на модели посттравматического стрессового расстройства у крыс и обосновать возможность коррекции сформированной патологии посредством активации D₂-, D₃-рецепторов миметиком дофаминергической системы мозга пирибедилом.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать поведение крыс в тестах «Открытое поле», «Крестообразный приподнятый лабиринт», «Интродер – резидент» и тесте Порсолта (принудительного плавания) в периоде до 9 дней после воздействия витального стресса, вызванного обстоятельствами гибели сородича от действий хищника.
2. Охарактеризовать поведение крыс через 3 нед после витального стресса с использованием тех же поведенческих методов и оценить динамику изменений в поведении животных на указанных сроках.
3. Оценить структурные и функциональные изменения в мозге крыс с использованием классического нейростологического метода (окраска по Нислю) и иммуноцитохимического метода (выявление антигенов NeuN и PCNA на срезах мозга) на сроке в 9 дней после витального стресса.
4. Оценить структурные и функциональные изменения в мозге крыс на сроке в 25 дней после витального стресса с использованием тех же гистологических методов и провести сравнительную оценку выявленных нарушений.
5. Определить влияние агониста D₂, D₃ дофаминовых рецепторов пирибедила на поведенческие отклонения и морфофункциональные изменения в мозге, вызванные воздействием острого витального стресса, на различных сроках после травмы.

Научная новизна

В работе обоснован научный тезис о том, что однократный витальный стресс, индуцированный гибелью партнёра, приводит к устойчивым расстройствам двигательного, эмоционального, исследовательского и агрессивного поведения, совпадающим по проявлениям с клинической картиной ПТСР у человека, в основе которых лежат не только функциональные, но и структурные нарушения в ЦНС. На модели ПТСР у крыс, вызванной переживанием обстоятельств смерти сородича и реальной угрозы собственной жизни, впервые продемонстрировано формирование длительно сохраняющихся структурно-функциональных нарушений в мозге. Описаны морфологические и цитохимические изменения в ЦНС, наблюдаемые при посттравматическом стрессовом расстройстве у животных в эксперименте, в частности, — гибель нервных клеток в гиппокампе, гипоталамусе, коре больших полушарий, подавление процессов нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа и субвентрикулярной зоне стенки боковых желудочков. Выявлен ранее не описанный феномен исчезновения иммуноцитохимической реакции на ядерный белок нервных клеток NeuN в гиппокампе и коре головного мозга после психогенного воздействия. Обнаружены различия в структурно-функциональных нарушениях в мозге, наблюдающихся на раннем и позднем сроках после перенесения животными психогенной травмы, — показаны анатомическая специфичность

и характер развития нарушений во времени. Впервые продемонстрировано корригирующее действие дофаминомиметика пирибедила на расстройства поведения в модели ПТСР, а также установлен нейропротективный эффект пирибедила в отношении структурных постстрессовых нарушений в мозге животных.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическое значение работы состоит в доказательстве научного положения о том, что в основе вызванных психической травмой поведенческих и эмоциональных расстройств лежит нарушение структурной целостности и репаративных возможностей мозга, обусловленное дисбалансом активности нейромедиаторных систем. Данные о поведенческих отклонениях и структурно-функциональных изменениях в мозге, полученные на разных сроках после перенесения животными психотравмирующего воздействия, позволяют исследовать развитие наблюдаемых нарушений в динамике, а также вносят новые сведения в понимание патогенеза ПТСР и депрессии. На основании гистологического исследования разработаны новые критерии оценки структурных и функциональных нарушений в мозге животных, подвергнутых психотравмирующему воздействию в эксперименте. Результаты исследования могут быть использованы при разработке методов фармакологической коррекции и ведения больных с ПТСР и депрессивными расстройствами в клинике. Полученные результаты используются в преподавании различных медицинских, медико-биологических и психологических дисциплин в Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. акад. И. П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербургском государственном педиатрическом медицинском университете МЗ РФ, Санкт-Петербургском институте психологии и акмеологии, Санкт-Петербургском университете МВД РФ, Санкт-Петербургском военном институте внутренних войск МВД РФ, Научно-исследовательском институте экспериментальной медицины СЗО РАМН.

Методология и методы исследования

Методология исследования состояла в изучении поведенческих последствий и структурно-функциональных изменений в головном мозге у крыс на различных отдалённых периодах (до 9 и до 25 дней) после однократного переживания ими обстоятельств гибели сородича и угрозы собственной жизни от действий хищника – тигрового питона – и исследовании возможностей коррекции выявленных нарушений посредством модуляции активности дофаминергической системы мозга с помощью агониста D₂, D₃ дофаминовых рецепторов пирибедила. Регистрацию поведения проводили в тестах «Открытое поле» (ОП), «Крестообразный приподнятый лабиринт» (КПЛ), «Интродер – резидент» (ИР) и тесте Порсолта. Гистологическое исследование головного мозга осуществляли как классическим нейрогистологическим методом — окрашивание по Нисслю, так и иммуноцитохимическим методом — проведение реакций

на антигены NeuN и PCNA на срезах мозга. Исследования выполнены с соблюдением всех принципов доказательной медицины и одобрены Локальным комитетом по био-медицинской этике при Научно-исследовательском институте экспериментальной медицины СЗО РАМН.

Положения, выносимые на защиту

1. У животных, подвергнутых воздействию витального стресса в эксперименте, наблюдаются длительно сохраняющиеся отклонения в поведении и эмоциональном реагировании, имеющие черты сходства с ПТСР у человека, без тенденции к их спонтанной нормализации.
2. У животных, подвергнутых воздействию витального стресса, наблюдаются структурно-функциональные изменения в мозге — гибель клеток, исчезновение иммуноцитохимической реакции на белок NeuN, подавление нейрогенеза, которые не только не имеют тенденции к нивелированию, но и усиливаются к более позднему сроку наблюдения.
3. Введение животным, подвергнутым воздействию витального стресса, в период после травмы агониста дофаминовых D₂-, D₃-рецепторов пирибедила корригирует поведенческие отклонения и предотвращает формирование структурных нарушений в головном мозге.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность определяется большим количеством наблюдений на 126 животных, формированием групп сравнения и контроля, использованием современных методов оценки поведения животных, морфологических изменений в мозге и фармакологического анализа, длительными сроками наблюдения и корректными методами статистической обработки результатов.

Материалы диссертации изложены в 19 работах, 5 из которых являются статьями в научных журналах, рекомендованных ВАК. Основные результаты исследования доложены и обсуждены на 1-й Международной летней школе по генетике поведения и нейронауке стресса Международного общества «Стресс и поведение» (Санкт-Петербург, 9–15 мая 2008 г.), 11-й Мультидисциплинарной международной конференции по нейронауке и биологической психиатрии «Стресс и поведение» (Санкт-Петербург, 16–20 мая 2008 г.), III Международном молодёжном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения» (Санкт-Петербург, 2–4 декабря 2009 г.), 14-й Мультидисциплинарной международной конференции по нейронауке и биологической психиатрии «Стресс и поведение» (Санкт-Петербург, 16–20 мая 2010 г.), XXI Съезде Физиологического общества им. И. П. Павлова (г. Калуга, 19–25 сентября 2010 г.), XIV Научной школе-конференции молодых учёных по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии (Москва, 21–22 октября 2010 г.), Всерос-

сийской научной конференции молодых учёных «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия», посвящённой 120-летию со дня основания Императ. Института экспериментальной медицины (Санкт-Петербург, 21–22 декабря 2010 г.), Всероссийской молодёжной конференции-школе «Нейробиология интегративных функций мозга», посвящённой 120-летию создания Физиологического отдела под руководством И. П. Павлова в Императ. Институте экспериментальной медицины (Санкт-Петербург, 21–25 ноября 2011 г.), II Всероссийской научной конференции молодых учёных «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия» (Санкт-Петербург, 12–14 ноября 2012 г.), Международном симпозиуме «Посттравматические стрессовые расстройства» (Москва, 4 марта 2013 г.) и других научных конференциях.

Личный вклад автора

Соискателем выполнены литературный поиск, планирование экспериментов, участие в моделировании психогенной травмы у животных, проведении поведенческого тестирования и статистической обработки данных по поведению, введение фармакологических препаратов животным, полное проведение морфологических исследований, получение гистологических изображений, их анализ и подготовка публикаций.

Структура и объём диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов, материалов и методов исследования, изложения экспериментальных данных, обсуждения полученных результатов, а также выводов, заключения и списка литературных источников. Работа изложена на 164 страницах машинописного текста, иллюстрирована 23 рисунками и 12 таблицами. Количество использованных литературных источников: 298. Из них 79 русскоязычных и 219 иноязычных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 содержит обзор литературы по механизмам формирования реакций на стресс и структурно-функциональным изменениям в ЦНС, сопутствующим развитию постстрессовой патологии. **Глава 2** включает описание объектов, материалов и методов исследования. **Глава 3** объединяет результаты, полученные в исследовании. **Глава 4** представляет обсуждение результатов исследования. В заключении обобщены основные перспективы исследования, приведены выводы, научно-практические рекомендации и список литературных источников.

Объекты, материалы и методы

Опыты выполнены на 126 крысах Wistar массой 200–250 г и возрастом 4–5 мес. Моделирование витального стресса на крысах осуществляли методом формирования психогенной травмы и ПТСР, вызванных переживанием угрозы собственной жизни и обстоятельств гибели сородича от действий хищника, — тигрового питона (Цикунов С. Г. и др., 2005, 2006). Экспериментальную группу крыс помещали в тер-

рариум к удаву, предварительно отделив его прозрачной перегородкой. Дожидались угасания у крыс ориентировочной реакции и убирали перегородку, позволяя удаву атаковать и заглотить одну или двух особей. Через 20–25 мин переживания ситуации угрозы жизни в замкнутом пространстве крыс изымали из террариума и рассаживали в те же клетки, в которых они содержались до опыта.

Регистрацию поведения животных проводили в тестах ОП (Hall C. S., 1934), КПЛ (Pellow S. *et al.*, 1985), ИР (Пошивалов В. П., 1986) и тесте Порсолта (Porsolt R. D. *et al.*, 1977). В тесте ОП оценивали уровни локомоторной активности, исследовательской деятельности, тревожности. Тест КПЛ также использовали для оценки уровня тревожности животных. Тест ИР показывал уровень коммуникативности животных и позволял оценить агрессивное поведение. В тесте Порсолта у крыс по показателю длительности состояния иммобильности (демонстрации «поведенческого отчаяния») оценивали наличие и степень депрессивноподобных отклонений в поведении. Поведение животных в указанных тестах оценивали в раннем (1 нед) и позднем (3 нед) периодах после стрессового воздействия. Влияние введения агониста D₂, D₃ дофаминовых рецепторов пирибедила в дозах 0,72 и 2,14 мг/кг животным оценивали методом анализа поведения с использованием тех же тестов. Статистическую обработку данных, полученных при регистрации поведения животных, проводили с применением t-критерия Стьюдента для нормальных распределений и U-теста Манна – Уитни для ненормальных распределений выборок.

После завершения поведенческой части исследования животных декапитировали и фиксировали их головной мозг. Фиксацию мозга проводили на раннем (через 9 дней) и на позднем (через 25 дней) сроках после воздействия стресса. Гистологическое исследование осуществляли как классическим нейрогистологическим методом — окрашивание срезов по Нисслю, так и иммуноцитохимическим методом — проведение реакций на антигены NeuN и PCNA на срезах мозга. С использованием указанных методов проводили оценку влияния пирибедила на состояние структур мозга. Регистрацию морфологических и цитохимических характеристик нервной ткани на препаратах осуществляли методом световой микроскопии. Для определения областей мозга крысы пользовались стереотаксическим атласом (Paxinos G., Watson C., 2007). Полученные наблюдения оценивали полуколичественным способом (Эллиниди В. Н. и др., 2002).

Результаты исследования

Отклонения в поведении и морфофункциональные нарушения в мозге крыс на раннем сроке (9 дней) после воздействия витального стресса

Изменение поведения крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса

В проведённых экспериментах крысы подвергались воздействию однократного витального стресса — переживали ситуацию угрозы жизни, становясь свидетелями

гибели сородича от действий удава. При моделировании психогенной травмы у крыс регистрировали поведенческие изменения, свидетельствующие о развитии реакций тревоги, страха, ажитации. На раннем сроке (3–8 дней) после стресса отмечали в тесте ОП (рис. 1, А) появление незавершённых и/или непоследовательных поведенческих реакций наряду с повышением частоты возникновения паттернов груминга ($p < 0,05$), что свидетельствует о выраженном снижении уровня комфортности в поведении животных. Наблюдали увеличение представленности в поведении паттернов фризинга ($p < 0,01$), что указывает на повышение уровня тревожности животных и реакций страха. Согласно значениям по показателю длительности обследования «норок», уровень исследовательской деятельности животных был существенно снижен ($p < 0,01$). Повышение длительности нахождения животных в закрытых «рукавах» лабиринта в тесте КПЛ (рис. 1, Б; $p < 0,01$) также указывает на возрастание уровня тревожности. Увеличение времени нахождения на центральной площадке ($p < 0,05$) свидетельствует о наличии у животных страха и затруднённости в выборе действий. В тесте ИР (рис. 2, А) у экспериментальных животных отмечали значимое повышение уровня агрессивности ($p < 0,01$ — по показателю вероятности) и регистрировали нарушение графологической структуры поведения с появлением признака патологической агрессии: высоковероятного автоперехода (повторения) паттерна атаки. Повышенная, в сравнении с контрольными животными, длительность состояния иммобильности в тесте Порсолта (рис. 2, Б; $p < 0,05$) свидетельствует о развитии у переживших стресс крыс депрессивноподобных отклонений в поведении.

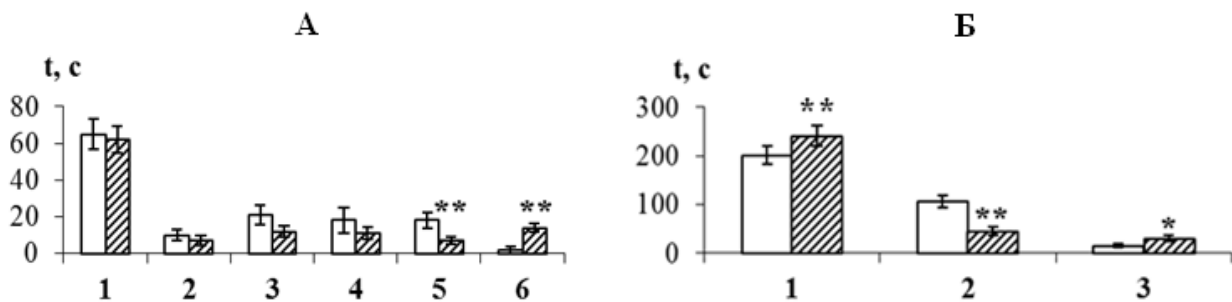


Рис. 1. Показатели модификации поведения крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса по тестам «Открытое поле» (А) и «Крестообразный приподнятый лабиринт» (Б). По оси абсцисс (А): 1 — локомоция; 2 — вертикальная активность; 3 — движение на месте; 4 — груминг; 5 — обследование «норок»; 6 — фризинг; (Б): 1 — закрытый «рукав»; 2 — открытый «рукав»; 3 — центральная площадка. По оси ординат (А, Б): — длительность актов. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$. Обозначения: □ — значение показателей поведения контрольных животных; ▨ — значение показателей поведения экспериментальных животных; p — значимость показателей.

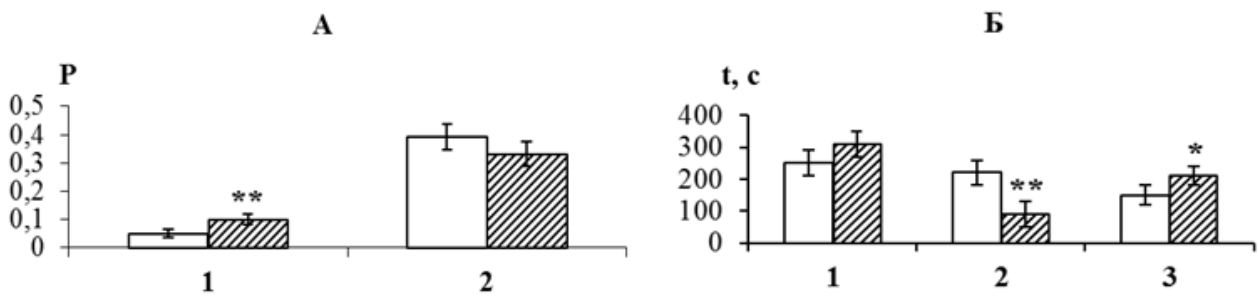


Рис. 2. Показатели модификации поведения крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса по тестам «Интродер – резидент» (А) и Порсолта (принудительного плавания) (Б). По оси абсцисс (А): 1 — агрессивное поведение; 2 — коммуникативное поведение; (Б): 1 — активное плавание; 2 — пассивное плавание; 3 — иммобильность. По оси ординат: (А) — вероятность актов; (Б) — длительность актов. Уровни достоверности различий и обозначения — те же, что к рис. 1.

Таким образом, в ходе поведенческого тестирования животных на раннем сроке после воздействия витального стресса были зарегистрированы такие отклонения в поведении, как повышение уровней тревожности, агрессивности, в т. ч. развитие патологической агрессии, снижение уровня исследовательской деятельности и появление признаков «депрессивности» поведения в тесте Порсолта.

*Морфофункциональные нарушения в головном мозге крыс
на раннем сроке после воздействия витального стресса*

После завершения исследования животных в поведенческих тестах проводили гистологическое исследование головного мозга. На препаратах головного мозга, фиксированного на раннем сроке (9 дней) после воздействия витального стресса при окраске срезов по Нисслию обнаруживали многочисленные диффузно расположенные гиперхромные и сморщенные нейроны, наиболее часто встречавшиеся в гиппокампе (поле СА3) (рис. 3) и супраоптическом ядре (СОЯ) гипоталамуса. У многих нейронов гиппокампа наблюдали извитые дендритные отростки. Отдельные гиперхромные и сморщенные клетки локализовались в коре больших полушарий (КБП; сенсомоторная и теменная ассоциативные области). На препаратах мозга контрольных животных таких изменений не регистрировали. При проведении иммуноцитохимической реакции на маркер NeuN на препаратах мозга перенёсших витальный стресс животных, в отличие от контрольных, выявляли зональное ослабление реакции на данный антиген в гиппокампе (поле СА2) и КБП (ретроспленальная, сенсомоторная кора). Ослабление иммуноцитохимической реакции на NeuN во всех наблюдавшихся областях носило асимметричный характер. Бóльшая выраженность данного повреждения была характерна для левого полушария мозга.

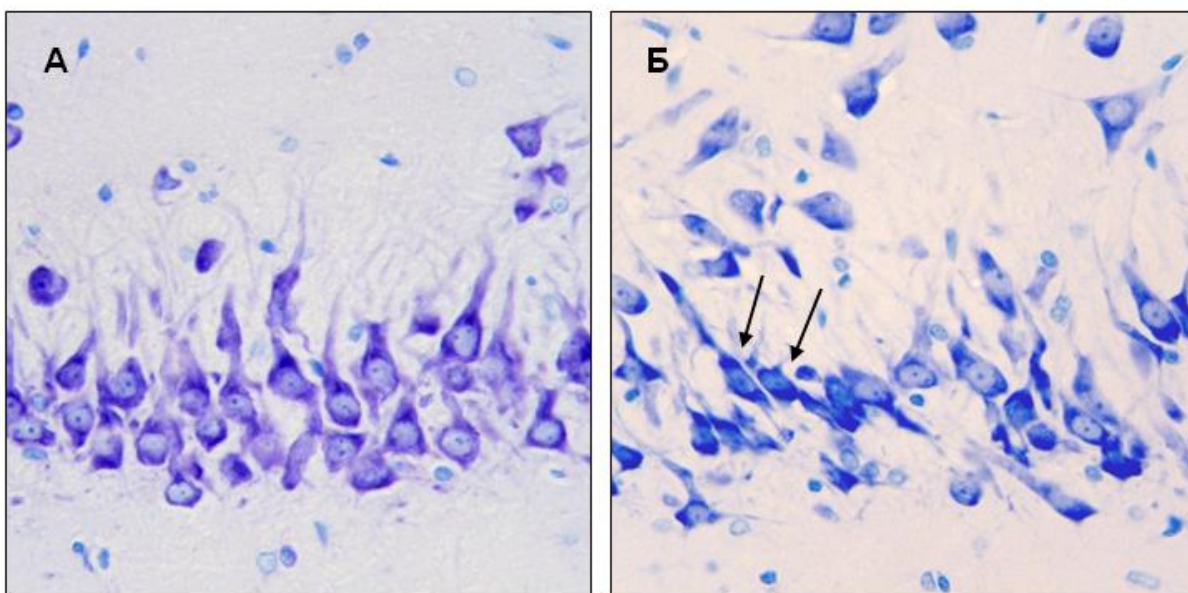


Рис. 3. Повреждение нейронов гиппокампа у крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса. Гиппокамп, поле СА3. Окраска по Нисслю, $\times 400$. А — интактное животное; Б — через 9 дней после витального стресса. Стрелками указаны сморщенные клетки.

При проведении реакции на PCNA отмечали ослабление и в отдельных случаях полное подавление нейрогенеза в гиппокампе (рис. 4), а также снижение, в сравнении с контролем, интенсивности пролиферации в субвентрикулярной зоне (СВЗ) (рис. 5). При регистрации пролиферирующих клеток отмечали их расположение единично, а не кластерами, как это можно наблюдать в норме.

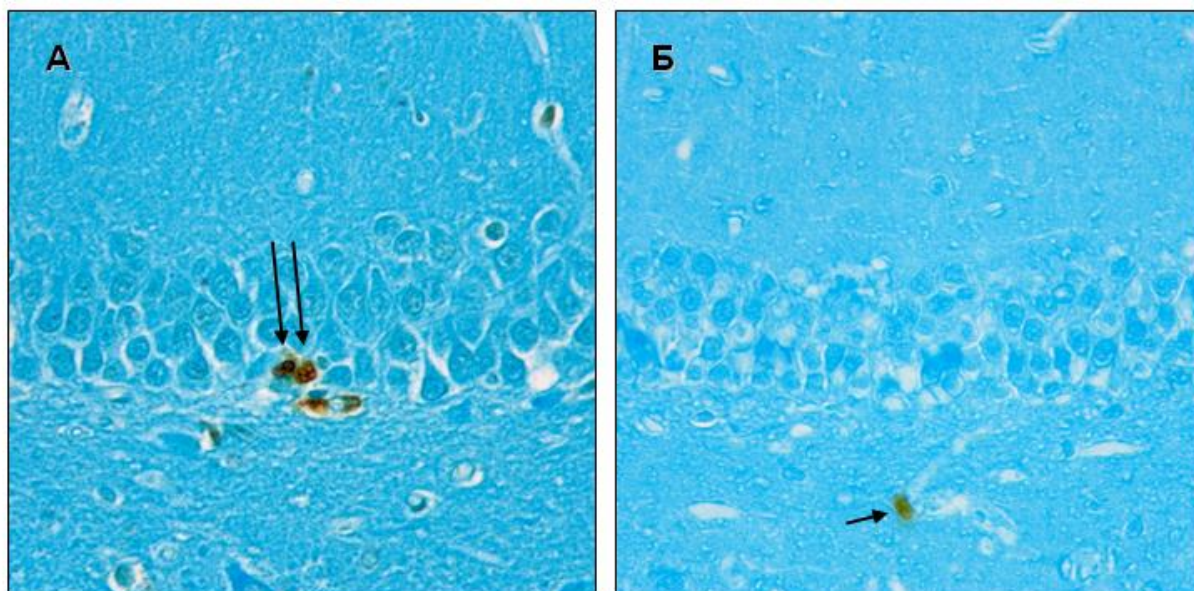


Рис. 4. Подавление нейрогенеза в гиппокампе у крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса. Гиппокамп, зубчатая фасция. Иммуноцитохимическая реакция на PCNA, докраска астровым синим, $\times 400$. А — интактное животное; Б — через 9 дней после витального стресса. Стрелками указаны пролиферирующие клетки. На изображении Б указана PCNA⁺-клетка, расположенная вне субгранулярного слоя зубчатой фасции.

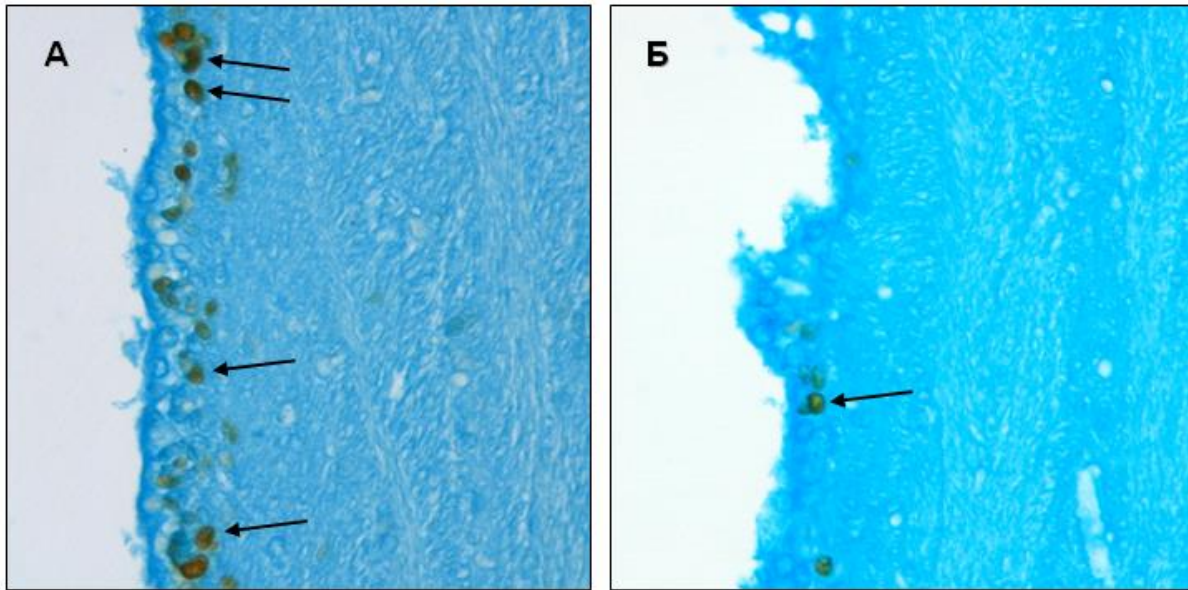


Рис. 5. Снижение интенсивности нейрогенеза в стенке боковых желудочков головного мозга крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса. Латеральная стенка бокового желудочка мозга, субвентрикулярная зона. Иммуноцитохимическая реакция на PCNA, докраска астровым синим, $\times 400$. А — интактное животное; Б — через 9 дней после витального стресса. Стрелками указаны пролиферирующие клетки.

Таким образом, гистологическое исследование головного мозга крыс на раннем сроке после воздействия острого витального стресса позволило выявить следующие морфофункциональные изменения: гиперхромия и сморщивание нейронов гиппокампа, СОЯ, КБП, ослабление иммуноцитохимической реакции на белок NeuN в гиппокампе, КБП, а также снижение интенсивности (подавление) пролиферации в СВЗ и субгранулярном слое зубчатой фасции гиппокампа.

Отклонения в поведении и морфофункциональные нарушения в мозге крыс на позднем сроке (25 дней) после воздействия витального стресса

Изменение поведения крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса

На позднем сроке после витального стресса (19–24 дня) в тесте ОП у крыс регистрировали сниженную вероятность паттерна обследования «норок» ($p < 0,05$), что свидетельствует о стойком нарушении исследовательского компонента поведения. Также отмечали повышенную, в сравнении с контролем, суммарную длительность паттернов фризинга ($p < 0,05$) и нарушение структуры актов груминга. Данное наблюдение является признаком длительно сохраняющегося у животных, переживших стресс угрозы жизни, высокотревожного состояния. Модификация поведения, выявленная в тесте ИР, характеризовалась повышенным уровнем агрессивности животных ($p < 0,05$) и достоверно более низким уровнем коммуникативности ($p < 0,05$). Тем не менее, в отличие от наблюдений, полученных на раннем сроке после витального стресса, в позднем постстрессовом периоде признаки патологической агрессии у животных существенно снизились. В тесте Порсолта у стрессированных крыс реги-

стрировали увеличенную длительность состояния иммобильности ($p < 0,05$), а также меньшую, в сравнении с контролем, длительность пассивного плавания ($p < 0,01$).

Таким образом, на позднем сроке после витального стресса отмечены длительное сохранение повышенных уровней тревожности, агрессивности, сниженных уровней исследовательского поведения, коммуникативности, а также наличие депрессивно-подобных отклонений. Полученные в результате тестирования животных наблюдения свидетельствуют о стойких нарушениях в структуре поведения, коррелирующих по своим проявлениям с симптомами ПТСР.

*Морфофункциональные нарушения в головном мозге крыс
на позднем сроке после воздействия витального стресса*

При окраске по Нислю в гиппокампе (поля СА3, СА1), СОЯ и КБП (сенсомоторная и теменная ассоциативные области) травмированных животных, как и на раннем сроке после стресса, регистрировали большое количество гиперхромных и сморщенных клеток. В гиппокампе наблюдали значительное распространение сморщенных нейронов с извитыми отростками. Доля сморщенных нейронов среди всех зарегистрированных повреждённых клеток гиппокампа на позднем сроке наблюдения была существенно выше. Почти все нейросекреторные клетки СОЯ были повреждёнными (гиперхромными или сморщенными). При проведении иммуноцитохимической реакции на маркер NeuN в гиппокампе выявляли анатомически чёткую зону «выключения» реакции на этот белок, ограниченную областями: поле СА1, ленточная извилина (рис. 6). На данном участке гиппокампа, аналогично наблюдениям, полученным при фиксации мозга на раннем сроке, располагались «пустые» (NeuN^-) контуры клеток — отмечали наличие светлой цитоплазмы при отсутствии иммуноцитохимической реакции на NeuN. В отличие от раннего срока, на 25-й день в указанных областях иммунопозитивных по NeuN клеток (NeuN^+) не регистрировали вообще или регистрировали только единичные на срез. Отмечали снижение интенсивности реакции на NeuN в КБП (рис. 6). Области коры, в которых отсутствовала или была существенно ослаблена реакция на этот антиген, включали в себя ретроспленальную и сенсомоторную кору. Описанное цитохимическое нарушение во всех наблюдаемых областях, как и на раннем сроке, носило асимметричный характер. При проведении иммуноцитохимической реакции на PCNA отмечали снижение или полное подавление пролиферативной активности в основных нейрогенных зонах ЦНС. В зубчатой фасции гиппокампа и в гиппокампе в целом отмечали почти полное подавление пролиферативной активности — PCNA⁺-клеток в большинстве случаев не наблюдали. В СВЗ отмечали уменьшение числа PCNA⁺-клеток — регистрировали ослабление, но не полное подавление пролиферативной активности. Кроме того, наблюдали PCNA⁺-клетки в областях мозга, не характерных для локализации пролиферирующих клеток у интактных животных: таламус, гипоталамус, стриатум.



Рис. 6. Асимметричное ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на NeuN в гиппокампе и лимбической коре у крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса.

Гиппокамп; лимбическая часть коры больших полушарий. Иммуноцитохимическая реакция на NeuN, докраска астровым синим, $\times 40$. Через 25 дней после витального стресса. Красным выделены зоны «выключения» реакции на маркер NeuN.

Таким образом, на позднем сроке после витального стресса были выявлены такие морфофункциональные изменения, как гиперхромия/сморщивание нейронов гиппокампа, КБП, СОЯ, ослабление реакции на NeuN в гиппокампе, КБП, снижение интенсивности (подавление) пролиферации в субгранулярном слое зубчатой фасции гиппокампа и СВЗ. Нарушения в структурах мозга на позднем сроке после стресса имели более выраженный характер, чем зарегистрированные на раннем сроке.

Фармакологическая коррекция отклонений в поведении и морфофункциональных нарушений в мозге крыс агонистом дофаминовых рецепторов пирибедилом после воздействия витального стресса

Коррекция отклонений в поведении крыс после воздействия витального стресса

В эксперименте на животных, подвергавшихся воздействию витального стресса, осуществляли курсовое введение пирибедила — агониста D_2 , D_3 дофаминовых рецепторов. Препарат вводили в двух дозировках, что позволяло оценить его дозозависимый эффект. В тесте ОП (рис. 7) поведение животных, получавших в постстрессовый период пирибедил, характеризовалось достоверно бóльшими, в сравнении с группой животных, получавших физиологический раствор (ФР), уровнями общей активности (рис. 7, А; количество актов — $p < 0,005$; количество пересечённых квадратов, в группе низкой дозировки — $p < 0,05$; значения по суммарному количеству актов и количеству пересечённых квадратов в обеих группах коррекции достигали уровня интактных), двигательной активности ($p < 0,005$ — по показателю длительности), исследовательской деятельности (рис. 7, Б; $p < 0,01$) и меньшим уровнем тревожности (рис. 7, В; $p < 0,05$ — в группе низкой дозировки). Отличие поведения крыс, получавших пирибедил в обеих дозировках, в тесте КПЛ от поведения животных, получавших ФР, можно оценить как неполную коррекцию (нормализованность)

уровня тревожности первых животных с наличием в поведении крыс из группы низкой дозировки элементов фрустрированности (затруднённости в принятии решений). В тесте ИР поведение крыс, получавших пирибедил в низкой дозировке, характеризовалось достоверно более низким, в сравнении с активным контролем, уровнем агрессивности ($p < 0,05$), достигавшим уровня интактных животных. Тогда как у животных, получавших пирибедил в высокой дозировке, отмечали значимо более низкий уровень коммуникативности ($p < 0,05$), по сравнению с обеими контрольными группами. Исследование в тесте Порсолта показало наличие значительно более низкой представленности в поведении состояния иммобильности ($p < 0,05$) и более высокого уровня активного плавания ($p < 0,05$) у крыс, которым вводили пирибедил в высокой дозировке, что свидетельствует об эффективной коррекции депрессивноподобных отклонений в поведении животных этой группы.

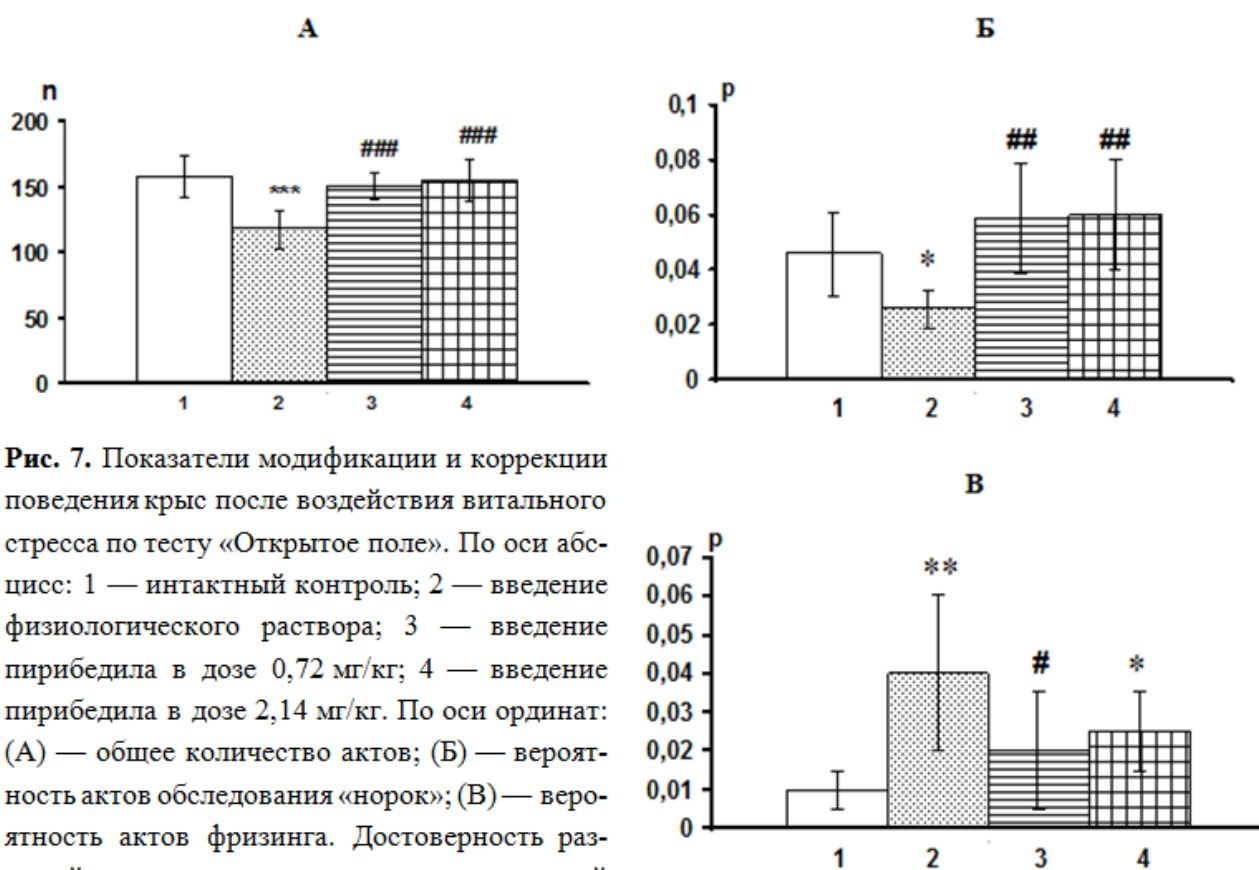


Рис. 7. Показатели модификации и коррекции поведения крыс после воздействия витального стресса по тесту «Открытое поле». По оси абсцисс: 1 — интактный контроль; 2 — введение физиологического раствора; 3 — введение пирибедила в дозе 0,72 мг/кг; 4 — введение пирибедила в дозе 2,14 мг/кг. По оси ординат: (А) — общее количество актов; (Б) — вероятность актов обследования «норок»; (В) — вероятность актов фризинга. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,005$ (в отличие от группы интактного контроля); # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,005$ (в отличие от животных, которым вводили физиологический раствор). Обозначения: p — значимость показателей.

В целом, поведение животных, получавших в постстрессовом периоде пирибедил, характеризовалось достоверно более высоким уровнем общей активности, близким к уровню интактных животных, и более высоким уровнем исследовательской деятельности. У животных, получавших пирибедил в низкой дозировке, отмечали достоверно больший уровень двигательной активности и более низкие уровни тревожности и агрессивности, а также меньшую выраженность в поведении депрессивноподобных отклонений. Животные, получавшие пирибедил в высокой дозировке, демонстрировали достоверно меньший уровень коммуникативности.

*Коррекция морфофункциональных нарушений в головном мозге крыс
после воздействия витального стресса*

Гистологическое исследование выполняли на животных, получавших ФР и пирибедил в дозировке 0,72 мг/кг, на 25-й день после стресса. При окраске по Нислю в гиппокампе крыс, подвергнутых воздействию витального стресса и получавших в постстрессовом периоде пирибедил, регистрировали гиперхромные и сморщенные клетки, однако в меньшем количестве, чем у животных, не получавших фармакологической коррекции. Расположение нейронов в пирамидном слое гиппокампа, а также морфология и ориентация их дендритных отростков характеризовались большей приближенностью к интактному контролю. В КБП повреждённых клеток не наблюдали или регистрировали их единично. Протективного эффекта введения пирибедила в отношении СОЯ отмечено не было. При проведении реакции на маркер NeuN на срезах мозга животных, получавших после стресса коррекцию, в большинстве случаев не отмечали изменения интенсивности или исчезновения данной реакции в клетках гиппокампа и КБП, в отличие от травмированных животных, не получавших коррекции. Интенсивность реакции на данный белок в нейронах в группе коррекции была высокой, распределение хромогена в клетке равномерным, — как в ядре, так и в перинуклеарной цитоплазме. По морфологическим и цитохимическим характеристикам NeuN⁺-клетки, выявлявшиеся на срезах, у большинства животных из группы коррекции были близки к интактным (рис. 8). При проведении реакции на PCNA в гиппокампе животных, получавших пирибедил, регистрировали отдельные пролиферирующие клетки. Таким образом, у животных из группы коррекции не происходило подавления пролиферации в этой структуре, в отличие от группы активного контроля. Оценка интенсивности пролиферативных процессов в СВЗ показала, что фармакологическая коррекция в большинстве случаев не оказывала значимого эффекта на интенсивность пролиферации в этой структуре, однако у отдельных животных из группы коррекции наблюдалось сохранение интенсивности нейрогенеза в СВЗ на интактном уровне. В нехарактерных для локализации пролиферирующих клеток областях мозга у крыс из группы коррекции, в отличие от группы активного контроля, PCNA⁺-клеток не регистрировали.

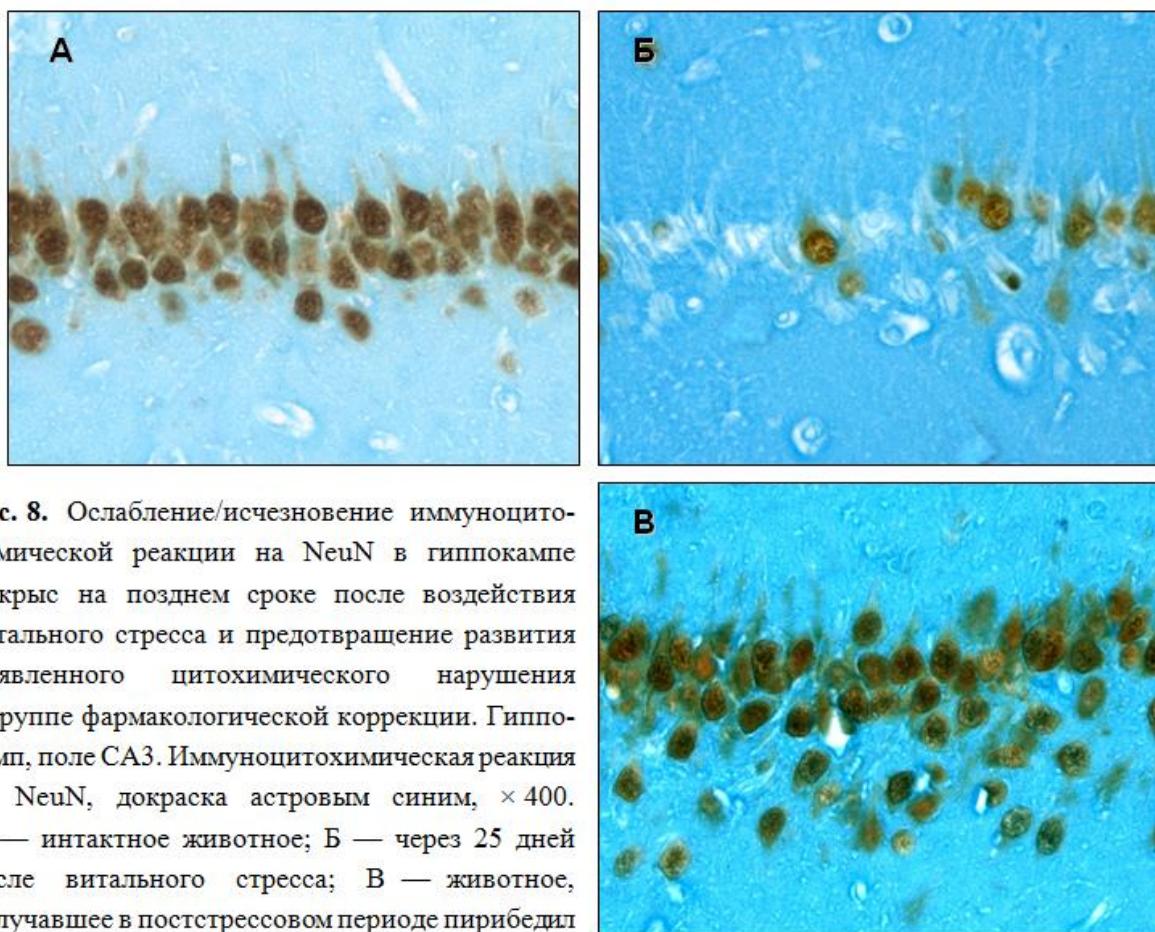


Рис. 8. Ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на NeuN в гиппокампе у крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса и предотвращение развития выявленного цитохимического нарушения в группе фармакологической коррекции. Гиппокамп, поле СА3. Иммуноцитохимическая реакция на NeuN, докраска астровым синим, $\times 400$. А — интактное животное; Б — через 25 дней после витального стресса; В — животное, получавшее в постстрессовом периоде пирибедил в дозировке 0,72 мг/кг в течение 23 сут эксперимента (материал взят через 25 дней после стресса).

Таким образом, отличия наблюдавшихся у животных, получавших в постстрессовом периоде пирибедил, структурно-функциональных нарушений в мозге от таковых у животных, не получавших коррекции, состояли в меньшей степени выраженности этих нарушений, за исключением повреждений, зарегистрированных в СОЯ гипоталамуса. Особо обращает на себя внимание выраженный нейропротективный эффект пирибедила в отношении исчезновения реакции на NeuN.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования поведения и морфофункциональных характеристик головного мозга крыс, однократно подвергнутых воздействию острого психотравматического стресса, вызванного переживанием угрозы собственной жизни и обстоятельств гибели сородича от действий хищника (витальный стресс), а также проведения курса фармакологической коррекции состояния стрессированных животных выявлен ряд отклонений в их поведении, в сравнении с интактными, и нарушений в структуре и функционировании головного мозга, являющихся основой выявленных поведенческих изменений. Указанные нарушения в поведении и морфофункциональные изменения в мозге корригировались при введении в постстрессовый период

агониста D₂, D₃ дофаминовых рецепторов — миметика дофаминергической системы мозга пирибедила. Отклонения в поведении и структурно-функциональные изменения в головном мозге переживших стресс крыс регистрировались на раннем (до 9 дней) и на позднем (до 25 дней) сроках после перенесения животными витального стресса. Поведенческие нарушения у травмированных животных характеризовались повышением представленности в поведении тревожности, агрессивности, в том числе появлением паттернов патологической агрессии, снижением уровней исследовательской деятельности, коммуникативности и демонстрацией состояния «поведенческого отчаяния» в тесте Порсолта. Характер структурно-функциональных изменений в мозге стрессированных крыс состоял в повреждении клеток мозга по типу гиперхромии и сморщивания, вероятно, являющимся начальной стадией гибели клеток, в ослаблении/исчезновении иммуноцитохимической реакции на нейронспецифичный белок NeuN в «лимбических» структурах мозга и снижении интенсивности или подавлении процессов нейрогенеза в основных пролиферативных зонах ЦНС. Наибольшая выраженность зарегистрированных поведенческих изменений отмечена в раннем периоде, а структурно-функциональных нарушений в мозге — на позднем постстрессовом сроке наблюдения. При проведении фармакологической коррекции наблюдалась нормализация поведенческих показателей, изменённых в результате витального стресса, а также частичное предотвращение развития структурных и функциональных изменений в мозге травмированных животных. Данное наблюдение указывает на вовлечённость в патогенез посттравматических стрессовых нарушений в ЦНС на модели ПТСР, вызванного витальным стрессом, дофаминергической системы мозга и свидетельствует о том, что основой выявленных поведенческих постстрессовых отклонений у крыс, переживших стресс угрозы жизни, являются гистологически и иммуноцитохимически регистрируемые изменения в структурах мозга.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие острого витального стресса в эксперименте на крысах приводит к формированию у животных на раннем сроке (до 9 дней) после стресса посттравматического расстройства с характерными отклонениями в поведении, такими как снижение двигательной активности, исследовательской деятельности, коммуникативности, повышение тревожности, агрессивности, в том числе появление патологической агрессии и развитие депрессивноподобных проявлений.
2. Отклонения в поведении, наблюдающиеся у животных на раннем сроке после воздействия витального стресса, сохраняются в течение длительного времени (до 25 дней после воздействия) и не имеют тенденции к полному исчезновению.
3. В результате острой психогенной травмы, связанной с угрозой жизни, у крыс на сроке до 9 дней после воздействия развиваются структурно-функциональ-

- ные нарушения в мозге, такие как гибель клеток в гиппокампе, неокортексе, гипоталамусе, ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на белок NeuN в нейронах гиппокампа, неокортекса, а также выраженное снижение интенсивности нейрогенеза в основных нейрогенных зонах ЦНС.
4. Структурно-функциональные нарушения, регистрируемые в мозге травмированных животных, носят долговременный характер — не только сохраняются, но и нарастают к отдалённому сроку наблюдения. На сроке до 25 дней после стрессового воздействия в мозге, в сравнении с наблюдениями на сроке до 9 дней после стресса, повышено число NeuN-иммунонегативных клеток и более выражена межполушарная асимметрия в нарушении реакции на NeuN.
 5. Применение агониста дофаминовых рецепторов пирибедила для коррекции посттравматического расстройства у животных в эксперименте приводит к нормализации их поведения и сопровождается протективным эффектом по отношению к наблюдаемым морфофункциональным изменениям в мозге на сроке в 25 дней после воздействия на животных витального стресса.
 6. Воздействие витального стресса приводит к развитию у крыс постстрессовых поведенческих отклонений и формированию морфофункциональных нарушений в мозге, которые подвергаются фармакологической коррекции с использованием агониста дофаминовых рецепторов пирибедила. Это свидетельствует о том, что выявленные морфофункциональные нарушения являются структурной основой длительно сохраняющихся поведенческих отклонений у животных, перенёсших стресс, вызванный угрозой жизни.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты исследований рекомендуется использовать при изучении ПТСР и другой постстрессовой патологии. Полученные данные рекомендуется учитывать при лечении больных ПТСР и депрессивными расстройствами в клинике, а также при разработке препаратов и методов для фармакологической коррекции этих заболеваний. В частности, следует обращать внимание на фармакологические группы препаратов, оказывающих нейропротективное действие и модулирующих активность нейрогенеза во взрослом мозге. Рекомендуется использовать полученные данные в преподавании различных медицинских, медико-биологических и психологических дисциплин в вузах.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах из перечня ВАК

1. *Кирик, О. В.* Маркеры пролиферации, применяемые в гистологических исследованиях / *О. В. Кирик, Г. В. Безнин, Д. Э. Коржевский* / Морфология. — 2009. — Т. 136, вып. 6. — С. 95–100.

2. *Коржевский, Д. Э.* Нейральные маркеры, используемые при изучении дифференцировки стволовых клеток / *Д. Э. Коржевский, Е. С. Петрова, О. В. Кирик, Г. В. Безнин, Е. Г. Сухорукова* / Клет. трансплантология и ткан. инженерия. — 2010. — Т. 5, № 3. — С. 57–63.
3. *Пятибрат, Е. Д.* Анализ нарушений обменных процессов у сотрудников МВД с психосоматическими расстройствами в отдаленном периоде после участия в боевых действиях / *Е. Д. Пятибрат, С. Г. Цикунов, А. В. Гордиенко, А. В. Коньков, И. В. Балабан, Н. Н. Клюева, А. Г. Пшеничная, Г. В. Безнин* / Мед. вестн. МВД. — 2012. — Т. LVI, № 1. — С. 54–56.
4. *Пятибрат, Е. Д.* Оценка нарушений метаболизма у военнослужащих с психосоматическими нарушениями в отдаленный период витального стресса / *Е. Д. Пятибрат, С. Г. Цикунов, А. В. Гордиенко, И. В. Балабан, Н. Н. Клюева, А. Г. Пшеничная, Г. В. Безнин, С. В. Лейчинский* / Воен.-мед. журн. — 2012. — Т. 333, № 9. — С. 46–51.
5. *Цикунов, С. Г.* Особенности изменения спектра липидов в отдаленном периоде витального стресса в эксперименте на животных и у людей / *С. Г. Цикунов, Е. Д. Пятибрат, А. В. Гордиенко, А. В. Балахонов, Н. Н. Клюева, А. Г. Пшеничная, Г. В. Безнин, А. Д. Денисенко* / Вестн. СПбГУ. Сер. 11: Медицина. — 2012. — № 2. — С. 155–160.

Прочие публикации по теме диссертации

6. *Tsikunov, S. G.* Morphological and cytochemical alterations in the rat brain after exposure to acute mental trauma / *S. G. Tsikunov, G. V. Beznin, V. I. Lioudyno, D. E. Korzhevskii* // Proc. 11th Multidiscipl. Internat. Neuroscience and Biol. Psychiatry Conf. “Stress and Behavior” (1st ISBS Conf.) (St Petersburg, Russia, May 16–20, 2008) / Eds A. V. Kalueff, J. L. LaPorte. — SPb., 2008. — PP. 41–42.
7. *Безнин, Г. В.* Морфологические и функциональные нарушения в мозге крыс, перенесших острую психическую травму / *Г. В. Безнин, А. Г. Пшеничная, А. Г. Кусов* // Тез. III Междунар. молодёж. мед. конгр. «Санкт-Петербургские научные чтения», посвящ. 160-летию со дня рожд. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, 2–4 декабря 2009 г.). — СПб., 2009. — С. 22.
8. *Tsikunov, S. G.* D₁ and D₂ dopamine receptors activation normalizes behavior in male and female rats with PTSD manifestations / *S. G. Tsikunov, A. G. Pschenichnaya, A. G. Kusov, G. V. Beznin, S. G. Belokoskova* // Proc. 14th Multidiscipl. Internat. Conf. on Neuroscience and Biol. Psychiatry “Stress and Behavior” dedicat. to 120th annivers. of the Institute of Experimental Medicine (3rd ISBS Congr.) (St Petersburg, Russia, May 16–20, 2010). — SPb., 2010. — PP. 14–15.

9. **Beznin, G. V.** Morphological and functional changes in brain of rats that experienced acute mental trauma / **G. V. Beznin, A. G. Pschenichnaya, A. G. Kusov, S. G. Tsikunov** // Proc. 14th Multidiscipl. Internat. Conf. on Neuroscience and Biol. Psychiatry “Stress and Behavior” dedicat. to 120th annivers. of the Institute of Experimental Medicine (3rd ISBS Congr.) (St Petersburg, Russia, May 16–20, 2010). — SPb., 2010. — P. 30.
10. **Пшеничная, А. Г.** Вовлечённость моноаминовых систем мозга в формирование посттравматического стрессового расстройства / **А. Г. Пшеничная, Г. В. Безнин, А. Г. Кусов, Н. Н. Клюева, С. Г. Белокоскова, С. Г. Цикунов** // XXI Съезд Физиол. об-ва им. И. П. Павлова (г. Калуга, 19–25 сентября 2010 г.). Тез. докл. — М. – Калуга: БЭСТ-принт, 2010. — С. 509.
11. **Безнин, Г. В.** Нейропротективный эффект вазопрессина и коррекция поведения крыс после острого психотравмирующего воздействия / **Г. В. Безнин, А. Г. Пшеничная, А. Г. Кусов, С. Г. Белокоскова, С. Г. Цикунов** // XXI Съезд Физиол. об-ва им. И. П. Павлова (г. Калуга, 19–25 сентября 2010 г.). Тез. докл. — М. – Калуга: БЭСТ-принт, 2010. — С. 56–57.
12. **Безнин, Г. В.** Функциональные и структурные нарушения в мозге крыс, переживших острую психическую травму / **Г. В. Безнин** // Тез. XIV Науч. шк.-конф. мол. уч. по физиологии высш. нерв. деятельности и нейрофизиологии (Москва, 21–22 октября 2010 г.). — М., 2010. — С. 34.
13. **Пшеничная, А. Г.** Депрессия поведения после острой психической травмы у самок крыс с различной моторной преференцией / **А. Г. Пшеничная, Г. В. Безнин, А. Г. Кусов, С. Г. Цикунов** // Мат-лы Всерос. конф. с междунар. участ. «Современные направления исследований функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга» (Москва, 2–3 декабря 2010 г.). — М., 2010. — С. 126–129.
14. **Безнин, Г. В.** Морфологические и функциональные нарушения в мозге крыс, переживших острую психическую травму / **Г. В. Безнин** // Тез. Всерос. науч. конф. мол. уч. «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия», посвящ. 120-летию со дня осн. Императ. Института экспериментальной медицины (Санкт-Петербург, 21–22 декабря 2010 г.) / Мед. акад. журн. — 2010. — Т. 10, № 5. — С. 6–7.
15. **Пятибрат, Е. Д.** Влияние антидепрессантов на динамику изменений поведенческих реакций, развившихся у крыс, переживших витальный стресс / **Е. Д. Пятибрат, С. Г. Цикунов, А. В. Гордиенко, Н. Н. Клюева, А. Г. Пшеничная, Г. В. Безнин** / Сб. науч. раб. врачей 442 ОВКГ МО РФ. — СПб.: 442 ОВКГ, 2011. — С. 151–153.
16. **Пятибрат, Е. Д.** Экспериментальное обоснование применения антидепрессантов в курсе терапии психогенно обусловленных расстройств в отдаленном периоде боевой психической травмы / **Е. Д. Пятибрат, С. Г. Цикунов, А. В. Гордиенко,**

- А. И. Андриянов, Н. Н. Клюева, А. Г. Пшеничная, И. В. Балабан, Г. В. Безнин* // Мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. «Современные проблемы военной медицины, обитаемости и профессионального отбора» (Санкт-Петербург, 17–18 ноября 2011 г.). — С. 275–276.
17. *Цикунов, С. Г.* Влияние антидепрессантов на измененное поведение у крыс после острого витального стресса / *С. Г. Цикунов, А. Г. Кусов, А. Г. Пшеничная, Г. В. Безнин, Н. Н. Клюева, С. Г. Белокоскова* // Мат-лы IV Съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» (18–21 сентября 2012 г., респ. Татарстан, г. Казань). — С. 194.
18. *Безнин, Г. В.* Морфофункциональные основы отклонений в поведении на модели острого витального стресса у крыс / *Г. В. Безнин, А. Г. Пшеничная, А. Г. Кусов, С. Г. Цикунов* // Мат-лы II Всерос. науч. конф. мол. уч. «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия» (Санкт-Петербург, 12–14 ноября 2012 г.) / Мед. акад. журн. — 2012. — Т. 12, № 3. — С. 37–39.
19. *Цикунов, С. Г.* Использование антидепрессантов для купирования измененного поведения и нормализации липидного обмена у крыс после острого психогенного стресса / *С. Г. Цикунов, Н. Н. Клюева, А. Г. Кусов, Л. В. Шатилина, А. Г. Пшеничная, Т. В. Виноградова, Г. В. Безнин* // Мат-лы Всерос. науч. конф. с междунар. участ. «Фармакологическая нейропротекция», посвящ. 90-летию Отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова Института экспериментальной медицины СЗО РАМН (Санкт-Петербург, 18–21 сентября 2013 г.) / Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. — Т. 11 (спецвып.). — С. 149–150.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИР	тест «Интродер – резидент»;
КБП	кора больших полушарий головного мозга;
КПЛ	тест «Крестообразный приподнятый лабиринт»;
ОП	тест «Открытое поле»;
ПТСР	посттравматическое стрессовое расстройство;
СВЗ	субвентрикулярная пролиферативная зона латеральной стенки боковых желудочков мозга;
СОЯ	супраоптическое ядро гипоталамуса;
ФР	физиологический раствор;
ЦНС	центральная нервная система;
NeuN	(neuronal nuclei) — нейронспецифичный ядерный белок;
NeuN ^{+/-}	NeuN-иммунопозитивные/иммунонегативные клетки;
PCNA	(proliferating cell nuclear antigen) — ядерный антиген пролиферирующих клеток;
PCNA ^{+/-}	PCNA-иммунопозитивные/иммунонегативные клетки.