

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК,
СЕВЕРО-ЗАПАДНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ФГБУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ» СЗО РАМН

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор С. Г. Цикунов;

доктор медицинских наук Д. Э. Коржевский

Санкт-Петербург

2013

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Стресс, травматический стресс, психическая травма	12
1.2. Посттравматическое стрессовое расстройство: патогенез, клинические проявления, долговременные последствия	17
1.3. Функциональные нарушения в центральной нервной системе при стрессовых расстройствах, аффективной патологии и депрессии.....	24
1.4. Структурные изменения в мозге, наблюдаемые при постстрессовых расстройствах и депрессии.....	26
1.5. Сопоставление наблюдаемых при депрессивных расстройствах структурных изменений в мозге с нарушениями памяти и эмоций	27
1.6. Механизмы развития функциональных и структурных нарушений в мозге при постстрессовой патологии и депрессии	28
1.7. Медиаторные концепции формирования эмоциональных и поведенческих расстройств	35
1.8. Участие нейромедиаторов в регуляции нейрогенеза.....	40
1.9. Проблемы моделирования психогенной аффективной патологии	42
1.10. Современные морфологические подходы к оценке структурно-функциональных изменений в центральной нервной системе	44
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	50
2.1. Формирование экспериментальных групп, условия содержания животных.....	50
2.2. Моделирование витального стресса	50
2.3. Методы регистрации и оценки поведения животных.....	51
2.4. Гистологическое исследование головного мозга	55
2.5. Фармакологическая коррекция состояния животных.....	62

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	64
3.1. Отклонения в поведении и морфофункциональные нарушения в мозге крыс на раннем сроке (9 дней) после воздействия витального стресса.....	65
3.1.1. Изменение поведения крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса	65
3.1.2. Морфофункциональные нарушения в головном мозге крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса.....	72
3.2. Отклонения в поведении и морфофункциональные нарушения в мозге крыс на позднем сроке (25 дней) после воздействия витального стресса	82
3.2.1. Изменение поведения крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса	82
3.2.2. Морфофункциональные нарушения в головном мозге крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса	89
3.3. Фармакологическая коррекция отклонений в поведении и морфофункциональных нарушений в мозге крыс агонистом дофаминовых рецепторов пирибедилом после воздействия витального стресса	98
3.3.1. Коррекция отклонений в поведении крыс после воздействия витального стресса	98
3.3.2. Коррекция морфофункциональных нарушений в головном мозге крыс после воздействия витального стресса.....	111
ОБСУЖДЕНИЕ	117
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	129
ВЫВОДЫ	131
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	132
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	134

ВВЕДЕНИЕ

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 V. 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., 2006а), способны интенсифицировать нейрогенез в центральной нервной системе (ЦНС). Перспективные фармакотерапевтические разработки связаны с изучением возможностей 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; Frančišković 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 нейрогистологического метода (окраска по Нисслю) 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 D_2 , D_3 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 субвентрику-

лярной 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 Нисслию, 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 биомедицинской 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.), Всероссийской 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Стресс, травматический стресс, психическая травма

Стресс (от англ. stress — давление, нажим, напряжение) — генерализованная неспецифическая реакция организма, возникающая под действием различных факторов необычных характера, силы и/или длительности (Литвицкий П. Ф., 2003). Стрессом называют общую реакцию организма на любое физическое или психологическое воздействие, нарушающее его гомеостаз, а также соответствующее состояние нервной системы и организма в целом.

Впервые термин «стресс» в физиологию и психологию ввёл Уолтер Брэдфорд Кеннон в своих классических работах по универсальной реакции «борьбы или бегства» (Cannon W. B., 1932). Реакция «борьбы или бегства» является острым ответом на стрессовое воздействие, первичной стрессовой реакцией. В более поздних исследованиях она была идентифицирована как первая стадия в составе общего адаптационного синдрома.

В современном биологическом смысле термин «стресс» начал использовать Ганс Селье. Концепция стресса была предложена им в 1936 г. в его первой работе, посвящённой описанию общего адаптационного синдрома. Селье характеризовал общий адаптационный синдром как гомеостатическую модель самосохранения организма и мобилизации ресурсов для реакции на стрессор (Selye H., 1936). Однако только с 1946 г. он стал использовать термин «стресс» для обозначения общего адаптационного напряжения, поскольку изначально этот термин использовался в основном для обозначения «нервно-психического напряжения» и долгое время ассоциировался с реакцией «борьбы или бегства».

Стресс является генерализованной реакцией организма на любой сильный раздражитель. Фактор, воздействующий на организм и вызывающий стресс, называют стрессором. При длительном действии стрессора на организм возникают адаптивные реакции, названные Г. Селье общим адаптационным син-

дромом. Различают три основные стадии общего адаптационного синдрома: а) реакция тревоги, б) стадия резистентности организма и в) стадия истощения. Острая физиологическая реакция на стрессор представляет собой активизацию симпатoadреналовой системы и сопровождается выбросом в кровь адреналина, норадреналина и глюкокортикоидных гормонов. Первая стадия общего адаптационного синдрома характеризуется мобилизацией всех энергетических ресурсов организма, перераспределением кровообращения между «жизненно важными» и «вторичными» органами тела в пользу первых, системным сужением просвета кровеносных сосудов, замедлением работы пищеварительной системы, повышением внимания и облегчением реакций на внешние раздражители. На второй стадии организм поддерживает мобилизованное состояние в течение наиболее возможно длительного времени, обеспечивая сопротивление неблагоприятным внешним воздействиям. В стадии истощения мобилизационные способности организма ослабевают и начинается процесс дизадаптации органов и систем. В зависимости от характера стрессового воздействия и условий среды нахождения организма, процесс дизадаптации может включать в себя различные патологические состояния вплоть до шока, полиорганной недостаточности, смерти.

Понятие стресса, в связи с его развитием на основе более поздних работ Г. Селье, а также на основе исследований Роберта Лазаруса, было дополнено терминами «эу-» и «дистресс» (Lazarus R. S., 1966). Согласно этой концепции, стресс, в зависимости от силы и длительности действия стрессора, а также от запаса адаптационных возможностей организма, разделяют на «нормальный» — эустресс (от др.-греч. εὖ — хорошо, вполне) и «патологический» — дистресс (от др.-греч. δῦσ- — приставка, означающая расстройство и усиливающая отрицательный смысл слова). Эустресс представляет собой состояние, производимое действием любого умеренного по силе стимула, который вызывает «естественную» активацию симпатoadреналовой системы, но не приводит к расстройству адаптационных возможностей организма. Состояние эустресса носит, как правило, позитивную эмоциональную окраску. Дистрессом называют состояние, возникающее вследствие чрезмерно сильного, избыточного по отношению к адаптацион-

ным возможностям действия стрессового фактора. Такие состояния обычно сопровождаются переживанием негативных эмоций и демонстрацией аверсивного поведения. Третья стадия общего адаптационного синдрома, таким образом, является дистрессом — патологическим компонентом стресса.

Отдельно рассматривают понятие травматического, или посттравматического, стресса. Термин «травматический стресс» во многом соответствует термину «дистресс». Однако для травматического стресса характерным является наличие именно травмирующего компонента, главным образом психогенного. Психическую травму можно определить как комплекс нарушений, возникающий при действии запредельного эмоционального стимула, переживаний чрезмерной силы, в т. ч. ситуации угрозы жизни (МКБ-10, 1995; Тарабрина Н. В., 2001). Стрессовое воздействие считается травмирующим в том случае, если оно приводит к формированию нарушений в психической сфере по аналогии с физическими повреждениями. При этом у субъекта нарушаются структура «самости», когнитивная модель мира, аффективная сфера, неврологические механизмы, управляющие процессами научения, система памяти и эмоциональные пути научения (Lazarus R. S., 1966). Также выделяют понятие витального стресса — переживания обстоятельств, выходящих за рамки опыта человека и связанных непосредственно с угрозой его жизни и существованию. Термин «витальный стресс» близок по значению термину «психическая травма».

Известно, что однократное психотравматическое воздействие может служить запускающим стимулом для развития расстройств аффективного профиля, в частности, — ПТСР (МКБ-10, 1995; DSM-5, 2013). Однако развитие посттравматического расстройства — только один из возможных исходов переживания психотравматического воздействия. Не для всех лиц, подвергшихся переживанию психотравматической ситуации, она становится психотравмирующей, т. е. приводящей к формированию психической травмы. Более того, не у всех лиц, перенёвших психическую травму, происходит развитие посттравматического расстройства. Риск развития посттравматической, или постстрессовой, патологии обусловлен, с одной стороны, обстоятельствами переживания субъектом психотравматиче-

ской ситуации, а с другой — функционированием его механизмов защиты (Тарабрина Н. В., 2008).

По уровням функционирования механизмы защиты от воздействия психотравматических психогенных факторов разделяют на психологические (копинг-стратегии (Lazarus R. S., 1966)) и физиологические. Под психологическими механизмами защиты от воздействия неблагоприятных психогенных факторов понимают различные способы совладания с имеющимися у субъекта эмоциями и переживаниями, связанными с вызвавшей их стрессовой ситуацией, и контролем собственного поведения в отношении факторов психоэмоционального напряжения (Benight C. C., Harper M. L., 2002). Среди физиологических механизмов известно большое число внутримозговых нейрохимических, в том числе нейрогормональных, систем, принимающих каждая своё специфическое участие в регуляции стрессовых реакций и адаптации к повторяющимся или хроническим стрессовым воздействиям (Yehuda R., 2004; Yehuda R., LeDoux J., 2007). Ряд нейротрансмиттеров, нейропептидов и гормонов связывают как с острой психобиологической реакцией на стресс, так и с долгосрочными психиатрическими последствиями. В этом ряду рассматриваются кортизол, кортикотропин, норадреналин, вазопрессин, нейропептид Y, галанин, дофамин, серотонин, γ -аминомасляная кислота (GABA; γ -aminobutyric acid), тестостерон и эстрогены (Charney D. S., 2004). Одним из наиболее важных химических регуляторных соединений, имеющих значение для адаптации к стрессовым факторам, считают кортизол. Достоверно показано, что многие формы психологического стресса увеличивают синтез и высвобождение кортизола, который мобилизует и пополняет запасы энергии, сдерживает иммунные реакции, способствует сосредоточению внимания и облегчению кодирования эмоциональной памяти (Rooszendaal B., 2000). Эти эффекты обеспечивают протекание адаптивных изменений в ходе острой стрессовой реакции. Немалое значение для адаптации организма к стрессу, наряду с нервной системой, имеют эндокринная и иммунная системы.

Ключевую роль в регуляции стрессовой реакции играет функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) (Чернышева М. П.,

1995). В норме при стрессовом воздействии происходит активация системы гипоталамус – гипофиз и выброс в кровь глюкокортикоидов. Интенсивность реакции надпочечников и ГГНС в целом зависит как от силы стрессового фактора, так и от внутренних регуляторных механизмов. Степень активации ГГНС регулируется отрицательной обратной связью между корковым веществом надпочечников и рецепторами к глюкокортикоидам, локализующимся в различных областях головного мозга (Cintra A. *et al.*, 1994). При нарушении отрицательной обратной связи в ГГНС развивается избыточная секреция кортизола в кровь (Gold P. W. *et al.*, 2002).

Длительное неизбежное воздействие стрессовых факторов на организм, как и чрезмерное воздействие на сенсорные системы (напр., шум, перегрузка вестибулярного аппарата), может приводить к формированию патологических отклонений на клеточном уровне и проявляться морфологически регистрируемыми нарушениями в головном мозге, ткани надпочечников, слизистой оболочке желудка и других органах (Селье Г., 1982; Кудинова Е. В., 2004; Кусов А. Г., 2006).

На основании результатов исследования механизмов защиты организма от неблагоприятных стрессовых воздействий разрабатывается концепция устойчивости или уязвимости к действию таких факторов (Charney D. S., 2004). Большую часть механизмов, обуславливающих наличие устойчивости или уязвимости организма к стрессовым воздействиям, составляют внутримозговые нейрохимические системы. Учитывая значительную степень детерминированности этих систем генетическими факторами, является возможным говорить о существовании генетически-обусловленных устойчивости или уязвимости организма к действию стресса. Так, ряд исследователей рассматривает в своих работах проблему наследственной предрасположенности к развитию патологических последствий переживания психогенного стресса, в частности, — посттравматических расстройств (Segman R. H., Shalev A. Y., 2003; Вайдо А. И. и др., 2009; Amstadter A. B. *et al.*, 2009).

При рассмотрении проблемы формирования посттравматических расстройств от действия психотравматических стрессовых факторов следует иметь в виду

высказывания некоторых исследователей о том, что существует некий «порог травматогенности», по превышении которого психогенные стрессовые воздействия являются травматичными для абсолютного большинства лиц и способными вызвать психическую травму почти у любого человека (Тарабрина Н. В., 2001). Психогенные стимулы такого рода называют сверхэкстремальными и рассматривают в качестве абсолютно травматичных. Психическую травму, полученную без сочетания с физическими травмирующими факторами, называют «чистой» психогенной травмой (Цикунов С. Г. и др., 2000). При сверхсильных эмоционально-травмирующих переживаниях риск формирования психической травмы практически не зависит от индивидуальных особенностей и наличия предшествовавших невротических отклонений. Таким образом, при действии запорогового психогенного стимула формирование психической травмы происходит у всех лиц, подвергшихся переживанию психотравматических обстоятельств.

1.2. Посттравматическое стрессовое расстройство: патогенез, клинические проявления, долговременные последствия

У человека среди аффективных расстройств выделяют депрессивные и биполярные расстройства, а также острые стрессовые расстройства и посттравматическое стрессовое расстройство. К депрессивным и биполярным расстройствам относят патологию как эндогенного, так и экзогенного (психогенного) происхождения. В случае эндогенной депрессии причиной заболевания является нарушение метаболизма медиаторов в мозге, связанное с генетическими или другими предрасполагающими к этому факторами, но не обусловленное переживанием психической травмы. Для развития психогенной, или реактивной, депрессии определяющим фактором является наличие в анамнезе острого или хронического психотравмирующего эпизода. В основе формирования острых стрессовых расстройств и ПТСР также лежит переживание психотравмирующих обстоятельств (МКБ-10, 1995; DSM-5, 2013). К острым стрессовым расстройствам относят острую стрессовую реакцию и собственно острое стрессовое расстройство (Вельтищев Д. Ю., 2010). Острая стрессовая реакция является транзиторной (до 2 дней) реакцией

на чрезмерное стрессовое воздействие (МКБ-10, 1995). Острое стрессовое расстройство является кратковременной реакцией на чрезмерное стрессовое воздействие, возникающей в период до 1 мес после воздействия стрессового стимула и нивелирующей по мере восстановления адаптационных возможностей организма (от 3 дней до 1 мес после начала её проявления) (DSM-5, 2013). Для острого стрессового расстройства, в отличие от острой стрессовой реакции, характерна манифестация диссоциативной симптоматики и других признаков, наблюдающихся при хроническом стрессовом расстройстве или ПТСР (Вельтищев Д. Ю., 2010). ПТСР формируется, по различным классификациям, через 6 мес или в более короткие сроки после перенесения острой психической травмы или от начала действия хронического травмирующего фактора (МКБ-10, 1995; DSM-5, 2013). Особенностью ПТСР является продолжительность наблюдающейся при этом расстройстве симптоматики (более 1 мес в случае перенесения острой психогенной травмы и более 3 мес при хроническом психотравмирующем воздействии). Для ПТСР характерны длительно сохраняющиеся психологические и социальные последствия. Хронические стрессовые расстройства, соответственно, предполагают хронизацию симптоматики, наблюдающейся при постстрессовых реакциях и расстройствах, в т. ч. при ПТСР, а также возможность формирования хронических изменений личности, вызванных переживанием психотравмирующих обстоятельств.

ПТСР — это непсихотическая отсроченная реакция на травматический стресс (такой как природные и техногенные катастрофы, боевые действия), способный вызвать психические отклонения практически у любого человека (МКБ-10, 1995; Тарабрина Н. В., 2001; DSM-5, 2013). Характер субъективных нарушений при этом расстройстве у людей, подвергшихся острому или хроническому психотравмирующему воздействию, состоит, как правило, в непрекращающихся или рецидивирующих воспоминаниях (реминисценциях) обстоятельств травматической ситуации по типу навязчивости с частичной или полной невозможностью переключения на текущую деятельность. Зачастую воспоминание и переживание психотравмирующих обстоятельств происходит с большой

яркостью, как бы «здесь и сейчас», что соответствует явлению флешбэка. Флешбэк (от англ. flash — вспышка, озарение; back — назад) (психопатологические репереживания или произвольные рецидивирующие воспоминания) — психологический феномен, при котором у человека возникают внезапные, обычно сильные повторные переживания прошлого опыта и его элементов. Наличие флешбэков является характерным для ПТСР симптомом. Основным синдромом в клинической картине ПТСР является депрессивный синдром, однако следует отличать от ПТСР собственно депрессию и другие депрессивные расстройства, этиологическим фактором для развития которых также может служить психическая травма. Психогенная депрессия, пусковым стимулом для которой явилось переживание психотравмирующей ситуации, может проявиться в иные сроки после стрессового воздействия, нежели ПТСР, и содержать в своей клинической картине различные симптомы, не характерные для этого расстройства (DSM-5, 2013). В случае маскированного течения депрессии такие симптомы, как снижение настроения, снижение общей активности, ангедония, могут вообще отсутствовать у субъекта или проявляться в малой степени. Ведущие проявления депрессии при этом будут смазанными или соматизированы. Клиническая картина ПТСР также может характеризоваться смазанной или маскированной симптоматикой. Сформировавшееся расстройство при этом будет проявляться не столько в депрессивном синдроме, сколько в симптоматике другого рода (демонстрации аддиктивного или агрессивного поведения, психосоматических нарушениях (Цикунов С. Г. и др., 2012а)).

Тем не менее, клинические проявления постстрессовой патологии в значительной мере оказываются схожими с симптоматикой депрессивных расстройств. Можно предположить, что постстрессовые расстройства могут иметь сходство с депрессией и другими расстройствами аффективной сферы не только в клинических проявлениях, но и в патогенезе. Кроме того, сходство этиологических факторов, способных привести к формированию ПТСР и других заболеваний, имеющих в своём составе депрессивный синдром, также указывает на возможную общность механизмов их развития. Так, более полное понимание патогенеза

депрессии позволило бы детальнее исследовать механизмы развития ПТСР и постстрессовых расстройств в целом. Однако многочисленные попытки выявить единый механизм депрессии оказались неудачными (Wolkowitz O. M., 2009; Шишкина Г. Т., Дыгало Н. Н., 2010).

Отдельные исследователи, рассматривая вопрос о высокой коморбидности ПТСР и большого депрессивного расстройства, обсуждают возможность введения в практику такой нозологической единицы, как посттравматическое аффективное расстройство (*posttraumatic mood disorder*) (Sher L., 2009).

Отмечается, что при ПТСР нарушается работа транспортеров дофамина в нейронах головного мозга (Segman R. H. *et al.*, 2002; Drury S. S. *et al.*, 2009). Также сообщается о повышении норадреналинергической активности голубого пятна при ПТСР (Geraciotti T. D. Jr *et al.*, 2001). Кроме того, показано, что одним из важных звеньев патогенеза ПТСР, также как большой депрессии и других аффективных расстройств, является нарушение метаболизма серотонина в ЦНС (Davis L. L. *et al.*, 1997). Дисфункция транспортеров медиаторных систем мозга наблюдается и при депрессивных расстройствах, что также свидетельствует о возможной общности некоторых звеньев патогенеза ПТСР и депрессии. Имеются сведения о том, что риск развития ПТСР коррелирует со степенью предрасположенности к развитию большой депрессии (Davidson J. R. *et al.*, 1998). Таким образом, наследственная предрасположенность к развитию депрессии может являться, с одной стороны, фактором риска в развитии ПТСР, а с другой — указывать на вовлечённость в механизмы формирования этих расстройств генетических факторов.

Однако если в отношении депрессии сложились некоторые системные представления о механизмах её развития и средствах терапевтического воздействия, то механизмы ПТСР остаются недостаточно ясными. Изучение ПТСР в эксперименте обусловлено рядом сложностей, среди которых — почти полное отсутствие валидных моделей этого вида патологии. Связано это, в первую очередь, с трудностью подбора адекватного этиологического фактора, сопоставимого со стимулами, оказывающими воздействие на человека.

Наряду с указаниями на нарушения в транспортерных механизмах различных нейромедиаторных систем мозга, имеются данные, демонстрирующие факт нарушения метаболизма липидов в организме при психогенных стрессовых воздействиях, а также сходство этих нарушений в эксперименте на животных с клиническими наблюдениями у пациентов при диагностированных посттравматических аффективных расстройствах (Цикунов С. Г. и др., 2002, 2006, 2012b; Пятибрат Е. Д. и др., 2012).

Изучаются различные биологические, в том числе генетические, факторы, обуславливающие формирование подверженности развитию ПТСР (Graef F. G., 2003; Segman R. H., Shalev A. Y., 2003; Вайдо А. И. и др., 2009; Amstadter A. B. *et al.*, 2009; Azorin J. M. *et al.*, 2010; Chertkow-Deutsher Y. *et al.*, 2010; Uddin M. *et al.*, 2010; Schmidt U. *et al.*, 2011). Показано, что предрасположенность к развитию ПТСР обуславливается как генетическими и эпигенетическими, так и онтогенетическими факторами организма (Yehuda R., Bierer L. M., 2008; Yehuda R. *et al.*, 2011). Имеются данные, указывающие на возможную связь риска развития ПТСР с носительством определённых полиморфизмов генов, кодирующих последовательности транспортеров дофамина (Valente N. L. *et al.*, 2011), серотонина (Adamec R. *et al.*, 2008; Kolassa I. T. *et al.*, 2010a; van IJzendoorn M. H. *et al.*, 2010; Valente N. L. *et al.*, 2011), катехол-*o*-метилтрансферазы (Kolassa I. T. *et al.*, 2010b), рецепторов кортикотропин-рилизинг-фактора (Amstadter A. B. *et al.*, 2011), глюкокортикоидов (Bachmann A. W. *et al.*, 2005; Yehuda R., Bierer L. M., 2008) и эндоканнабиноидов (Lu A. T. *et al.*, 2008). Показана связь активности отдельных генов и кодируемых ими белков с регуляцией работы ГГНС, а также с формированием уязвимости к воздействию стресса и развитию постстрессовых расстройств, в т. ч. ПТСР (Xie P. *et al.*, 2010). Ряд исследований связан с вопросами генетической и эпигенетической предрасположенности к развитию ПТСР в соотношении с его клиническими проявлениями и нейробиологическими механизмами (изменённым функционированием ГГНС, сниженным уровнем кортизола, повышенной норадреналинергической активностью голубого пятна и нейронных связей этой и других структур с лимбической системой), а также с наблюдающимися

при этом расстройстве нейроанатомическими нарушениями (Ehlert U. *et al.*, 1999; O'Donnell T. *et al.*, 2004; Skelton K. *et al.*, 2012). Рассматривается возможность существования полигенной предрасположенности к формированию ПТСР, опосредованной на молекулярном уровне различиями в функционировании систем генов серотонина, дофамина, глюкокортикоидов, GABA, аполипопротеина, BDNF (brain-derived neurotrophic factor) и нейропептида Y (Broekman B. F. *et al.*, 2007). Изучается мультифакторное влияние наследственности и предшествовавших неблагоприятных воздействий на риск развития ПТСР (Afifi T. O. *et al.*, 2010). Рассматриваются вопросы возникновения возможных эпигенетических модификаций, наличие которых могло бы объяснить долговременное поддержание симптомов, наблюдающихся у человека при ПТСР (Yehuda R., Bierer L. M., 2009).

Проводятся исследования, посвящённые комплексному изучению нейробиологических основ ПТСР, а также факторов риска его развития и возможных способов профилактики (Heim C., Nemeroff C. B., 2009). Сообщается об уменьшении плотности GABA_A-рецепторов в мозге пациентов, страдающих ПТСР (Geuze E. *et al.*, 2008a). Имеются исследования, освещающие вопросы развития ПТСР в его связи с нарушениями уровня кортизола в организме и функционирования ГГНС (Yehuda R., 1999b; Marshall R. D., Garakani A., 2002). Проводятся исследования, связанные с изучением преформирующих факторов, действующих на организм в онтогенезе, и способов моделирования ПТСР (Imanaka A. *et al.*, 2006).

Рассматривается вопрос о возможном участии в развитии ПТСР цитоскелет-ассоциированного белка Arc, являющегося эффектором генов раннего ответа, принимающего участие в обеспечении процессов нейропластичности, модифицировании синаптических связей в мозге и формировании следов долговременной памяти. Исследован уровень экспрессии мРНК белка Arc в различных структурах мозга в соотношении с индивидуальными паттернами поведенческого ответа на действие стрессора и уровнем периферического кортикостерона у экспериментальных животных. У особей, поведенческий ответ которых на предъявление запаха хищника характеризовался минимальными или частичными нарушениями, в областях CA1 и CA3 гиппокампа наблюдалось значительное усиление

синтеза мРНК этого белка. Притом у животных, демонстрировавших существенные поведенческие нарушения, такого усиления синтеза белка Arg не было зарегистрировано (Kozlovsky N. *et al.*, 2008).

В отдельных работах сообщается о регистрации иммунологических нарушений в организме при ПТСР (Wong C. M., 2002).

В эксперименте на животных изучается роль различных генетических маркеров и наследственных механизмов, обуславливающих уровень подверженности формированию ПТСР при действии психотравматических факторов (King J. A. *et al.*, 2001; Kesner Y. *et al.*, 2009). Проводится рассмотрение вопросов, касающихся клинических проявлений ПТСР, их связи с генетической предрасположенностью к развитию этого расстройства и возможных способах его адекватного моделирования (Zhang L. *et al.*, 2006). Также рассматривается вопрос о возможности применения сведений о механизмах устойчивости/подверженности действию психогенных стрессоров и формирования ПТСР при лечении этого расстройства в клинике (Jovanovic T., Ressler K. J., 2010).

Притом что механизмы формирования ПТСР и депрессивных отклонений после переживания психотравмирующего опыта остаются недостаточно изученными, в клинической практике с целью купирования симптомов этого заболевания успешно применяют антидепрессанты (Аведисова А. С., 2009; Frančišković T. *et al.*, 2011). Указанный факт может быть обусловлен общностью некоторых звеньев патогенеза постстрессовой патологии и депрессивных расстройств. Наиболее распространённым методом коррекции ПТСР на сегодня является психотерапевтическое воздействие (Слабинский В. Ю., 2012). Однако для разработки адекватных патогенетически обоснованных методов коррекции ПТСР с применением психофармакотерапевтического подхода недостаточно сведений о механизмах развития данной нозологии.

Значение влияния постстрессовой патологии на общее состояние здоровья человека очень велико. Течение ПТСР, депрессии и других расстройств аффективного профиля, вызванных пережитой ранее психической травмой, зачастую связано с накоплением неотрагированных негативных эмоций, «инкапсуляцией»

патологического аффекта. Такие нарушения, как следствие, влекут за собой дисрегуляцию эндокринной, иммунной систем, обмена веществ и приводят, в частности, к повышению риска развития атеросклероза, инфарктов миокарда и инсультов.

1.3. Функциональные нарушения в центральной нервной системе при стрессовых расстройствах, аффективной патологии и депрессии

Ведущими симптомами депрессивных расстройств являются сниженное настроение и ослабление общей активности (Depression, 2011). Согласно современным представлениям, ключевым соматическим фактором, обеспечивающим поддержание нормального уровня настроения, а также связанным с развитием депрессивных проявлений в психике человека и поведении животных, является метаболизм нейромедиаторов в ЦНС. Известно, что уровень общей активности у человека и животных также обеспечивается метаболизмом определённых медиаторов и гормонов, в частности, — гормонов щитовидной железы и надпочечников. Среди нейромедиаторов, участвующих в регуляции эмоций, называют серотонин, дофамин, норадреналин (Chichinadze K., 2002). Есть основания полагать, что при постстрессовых расстройствах происходят изменения в активности различных нейромедиаторных систем.

Чрезмерные стрессовые переживания, в особенности повторные, могут приводить к нарушению функции отрицательной обратной связи в ГГНС, уплощению суточной кривой содержания глюкокортикоидов в плазме крови и сохранению изменённого базального уровня этих гормонов. Нарушения такого рода в функционировании ГГНС могут наблюдаться при различной патологии, а характер изменений при этом также может различаться. Так, большинство исследований указывает на повышение базального уровня глюкокортикоидов в крови, в частности, при депрессии (Deuschle M. *et al.*, 1997; Wong M. L. *et al.*, 2000), однако известны исследования, сообщающие о снижении данного уровня — при ПТСР (Yehuda R., 2001). Такие состояния (напр., при депрессивных расстройствах) клинически проявляются в нарушении настроения, осложнении засыпания и сна, смещённом уровне дневной активности, а также расстройстве различных витальных функций.

В ряде клинических исследований отмечены характерные функциональные нарушения в ЦНС при депрессиях: пониженное содержание в мозге определённых нейромедиаторов и/или их предшественников (Kennedy S. E. *et al.*, 2006; Krishnan V., Nestler E. J., 2008). Имеются сведения о том, что сочетание симптомов, характерное для депрессии, и преобладание тех или иных аффективных нарушений в её клинической картине коррелирует с изменениями баланса основных моноаминовых нейромедиаторов в мозге (Nutt D. J., 2008). Имеются сведения о вовлечённости в патогенез депрессии отдельных подкорковых структур мозга и различных нейромедиаторных систем, связанных общим нейрхимическим субстратом (Shirayama Y., Chaki S., 2006).

В исследованиях, посвящённых изучению патогенеза депрессивных расстройств, также уделяется внимание изменённому (сниженному) уровню мРНК тех или иных нейромедиаторов и нейрогормонов в ЦНС, изменённой плотности пре- и постсинаптических рецепторов соответствующих химических передатчиков, нарушенной активности ферментов, принимающих участие в обратном захвате и деградации нейромедиаторов. В частности, сообщается об изменении свойств глутаматергических синапсов в гиппокампе при экспериментальной депрессии поведения у крыс (Abramets I. I. *et al.*, 2001).

Экспериментальными исследованиями показано, что при характерном для аффективных расстройств нарушении метаболизма нейромедиаторов и нейрогормонов, а также изменённой реактивности ГГНС у животных на моделях постстрессовой патологии наблюдаются изменения в поведенческой активности. Так, в ряде работ сообщается об изменении, наряду с зарегистрированными нейрхимическими и нейрогормональными отклонениями в организме, уровней тревожности, коммуникативности, агрессивности и других компонентов поведения (Цикунов С. Г. и др., 2005а, б, 2006). Эти нарушения являются близкими к симптоматике ПТСР, что в совокупности также указывает на общность механизмов развития постстрессовой патологии и депрессивных расстройств для человека и животных.

1.4. Структурные изменения в мозге, наблюдаемые при постстрессовых расстройствах и депрессии

При изучении различных психических расстройств и ПТСР, в частности, закономерно возникает вопрос о существовании морфологических изменений в структурах головного мозга, предположительно вовлечённых в развитие изучаемой патологии.

Первые упоминания о возможности формирования структурных нарушений в головном мозге при воздействии психогенных факторов можно отнести к работам немецкого невролога Германа Оппенгейма (Oppenheim H., 1889). В своих исследованиях он описал «травматический невроз», наблюдавшийся у участников боевых действий. Причины диагностируемых у таких пациентов психических расстройств он усматривал в органических нарушениях головного мозга, вызванных как физическими, так и психологическими факторами.

В многочисленных современных исследованиях, проведённых с использованием как прижизненных нейровизуализационных, так и посмертных патолого-анатомических техник, было показано, что при депрессии и ПТСР, а также при шизофрении наблюдается изменение объёма определённых структур мозга (Bremner J. D. *et al.*, 2000; Arango C. *et al.*, 2001; Varghese F. P., Brown E. S., 2001; Hull A. M., 2002; Cannistraro P. A., Rauch S. L., 2003; Graef F. G., 2003; Campbell S., MacQueen G., 2004; Karl A. *et al.*, 2006; Hamilton J. P. *et al.*, 2008). В частности, при депрессии (Videbech P., Ravnkilde B., 2004; Eker C., Gonul A. S., 2010) и ПТСР (Winter H., Irlé E., 2004; Weber M. *et al.*, 2013) отмечали уменьшение размеров гиппокампа, отдельных участков мозолистого тела и других областей мозга. Сообщается о связи между изменениями объёма гиппокампа у пациентов, страдающих ПТСР, и наблюдающимися у них нейроэндокринными отклонениями в организме (Yehuda R., 1999a).

Наряду с результатами клинических исследований, существуют экспериментальные данные, показывающие связь изменений объёма гиппокампа с хроническими стрессовыми воздействиями у животных (Czeh B. *et al.*, 2007; Lee T. *et al.*, 2009). Известны работы, демонстрирующие возможность формиро-

вания структурно-функциональных изменений в мозге на гистологическом уровне при различных видах экспериментального стресса (Magariños A. M. *et al.*, 1996; Gould E. *et al.*, 1997; Кудинова Е. В., 2004; Тишкина А. О. и др., 2009).

Исследователи связывают уменьшение объёма структур мозга при различных видах патологии, как в клинических, так и в экспериментальных исследованиях, с гибелью клеток, структурными перестройками в ткани мозга и нарушением процессов нейрогенеза (Watanabe Y. *et al.*, 1992; McEwen B. S., Sapolsky R. M., 1995; Abrous D. N. *et al.*, 2005; Bremner J. D., 2006b; Conrad C. D., 2006; Van Boven R. W. *et al.*, 2009).

Кроме того, рассматривается возможность нарушения роста и развития мозга, а также развития эмоциональной сферы психики у людей, страдающих аффективными расстройствами, вызванными или усугублёнными переживанием стрессовых ситуаций (Lyons D. M., 2002).

1.5. Сопоставление наблюдаемых при депрессивных расстройствах структурных изменений в мозге с нарушениями памяти и эмоций

Известно, что среди клинических проявлений депрессии наблюдаются нарушения эмоций, памяти, затруднение процессов мышления (МКБ-10, 1995; DSM-5, 2013; Pauls F. *et al.*, 2013). Как сообщалось в ряде исследований, депрессии и другие психические заболевания могут сопровождаться регистрируемыми функциональными нарушениями в работе мозга (Авин А. И., 1992; Ивонин А. А. и др., 2008; Изнак А. Ф., 2008) и при этом может иметь место изменение размеров тех или иных мозговых структур (Sheline Y. I. *et al.*, 1999; Campbell S., MacQueen G., 2004). Отдельные исследователи сопоставляют в своих работах наблюдаемые при различных психических заболеваниях структурные изменения в мозге, как то: уменьшение объёма гиппокампа, миндалина, мозолистого тела, — с клиническими нарушениями памяти и эмоций (Bremner J. D., 2006a; Richert K. A. *et al.*, 2006; Tischler L. *et al.*, 2006; Geuze E. *et al.*, 2008b). Имеются экспериментальные работы, показывающие вовлечённость структурно-функциональных перестроек в ЦНС в формирование специфических нарушений памяти

при хроническом воздействии стресса (Conrad C. D., 2006). В соответствии с данными, полученными в таких исследованиях, становится возможным предполагать участие структурных изменений в мозге в формировании и поддержании расстройств эмоционального фона, нарушений эмоциональных реакций и отклонений в работе памяти. Согласно работам ряда исследователей, дисфункция отрицательной обратной связи в ГГНС, формирующаяся на уровне гиппокампа, является основным звеном в развитии долговременных депрессивных изменений психики и нарушений памяти, вызванных стрессом, и играет ключевую роль в клиническом течении большой депрессии (Dubrovsky B., 1993; Barden N., 2004; Wright R. L. *et al.*, 2006). Более глубокое понимание структурных нарушений в мозге, наблюдающихся при расстройствах эмоционального реагирования, позволило бы объяснить механизмы длительного поддержания поведенческих отклонений в эксперименте на животных. Так, уменьшение в размерах гиппокампа – структуры мозга, являющейся основным компонентом лимбической системы и осуществляющей ключевую функцию в процессах консолидации энграмм памяти, а также богатой расположенными в ней рецепторами к глюкокортикоидам, – можно считать наиболее существенным фактором в длительном сохранении эмоциональных и поведенческих нарушений при депрессии (Yehuda R., 1999b). В связи с этим усиливается интерес к детальному раскрытию процессов, сопровождающих структурные изменения в гиппокампе при депрессии и постстрессовых расстройствах.

1.6. Механизмы развития функциональных и структурных нарушений в мозге при постстрессовой патологии и депрессии

Среди процессов, вносящих свой вклад в формирование структурно-функциональных нарушений в мозге при постстрессовой патологии и депрессивных расстройствах, называют: 1) гибель клеток (McEwen B. S., Sapolsky R. M., 1995; Van Boven R. W. *et al.*, 2009), — в частности, при реализации механизмов эксайтотоксичности и запуска каскадов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Флёров М. А., Вьюшина А. В., 2011); 2) ремоделинг клеток мозга (в т. ч. глии),

патологическую перестройку дендритного дерева нейронов (Watanabe Y. *et al.*, 1992; McEwen B. S., Sapolsky R. M., 1995; Van Boven R. W. *et al.*, 2009); 3) ослабление процессов нейрогенеза (Abrous D. N. *et al.*, 2005; Bremner J. D., 2006b; Van Boven R. W. *et al.*, 2009).

В ситуации хронического стресса или чрезмерном, как по силе, так и по длительности, (звуковом) воздействии на сенсорные системы в эксперименте можно наблюдать диффузную гибель клеток мозга (Кудинова Е. В., 2004). Как правило, помимо появления гиперхромных нейронов непосредственно в сенсорных областях коры головного мозга и соответствующих им чувствительных ядрах, основной областью поражения в мозге становится гиппокамп. Считается, что это происходит вследствие его наибольшей подверженности действию гипоксических и токсических процессов в мозге. Характер повреждения нейронов при различных патологических состояниях может варьировать от гиперхромности различной степени, что будет характеризовать нервные клетки как функционально перегруженные и, вероятно, подверженные гипоксическому поражению, до сморщенности, характеризующей такие клетки как гибнущие. Среди механизмов, участвующих в гибели клеток в мозге, называют гипоксические/ишемические нарушения (Алексеева О. С. и др., 2010), эксайтотоксические повреждения (Butler T. R. *et al.*, 2010).

Также среди значимых факторов, действующих на клетки мозга при психоэмоциональных расстройствах и других неблагоприятных воздействиях, называют окислительный стресс (Флёров М. А., Вьюшина А. В., 2011). Это понятие включает в себя гипоксические нарушения, свободнорадикальную клеточную патологию, запуск каскадов ПОЛ. Свободнорадикальные процессы играют одну из ключевых ролей в формировании повреждений головного мозга на клеточном уровне при различных видах патологии. Сообщается, что ПОЛ играет важную роль в патогенезе тревожно-депрессивных расстройств и других психопатологий (Tsaluchidu S. *et al.*, 2008; Novatta I. *et al.*, 2010). Более того, имеются сведения, подтверждающие непосредственное участие нарушения окислительных процессов в мозге при реализации агрессивного поведения у мышей в тесте ИП (Rammal H. *et al.*, 2010).

Кроме того, к повреждающим факторам, играющим роль в изменении объёма мозговых структур при различных психических заболеваниях, относят патологический ремоделинг нервной ткани. Под ремоделингом понимают ряд функционально-обусловленных морфологических изменений, происходящих, в частности, с нервной клеткой и приводящих к вторичному изменению её структуры и свойств. Ремоделинг нервных клеток при стрессовых воздействиях описан в гиппокампе (Magariños A. M. *et al.*, 1996; Brown E. S. *et al.*, 1999; Conrad C. D. *et al.*, 1999; Vyas A. *et al.*, 2002; Wood G. E. *et al.*, 2004; McLaughlin K. J. *et al.*, 2005, 2007; Conrad C. D., 2006), миндалине (Vyas A. *et al.*, 2002) и префронтальной коре (Liston C. *et al.*, 2006; Perez-Cruz C. *et al.*, 2007). Показано, что при хроническом стрессовом воздействии и чрезмерном повышении уровня глюкокортикоидов, связанном с нарушением отрицательной обратной связи в ГГНС, происходит ретракция дендритного дерева нейронов поля СА3 гиппокампа, и вследствие этого наблюдается атрофия гиппокампальной области (Conrad C. D. *et al.*, 1999; Conrad C. D., 2006). Результатом таких изменений в нервной ткани, по мнению исследователей, являются специфические постстрессовые нарушения в работе памяти.

Важным фактором, участвующим в формировании структурно-функциональных нарушений в мозге при постстрессовой патологии и депрессивных расстройствах, является нарушение нейрогенеза. Нейрогенез — это комплексный процесс, включающий в себя появление в мозге новых клеток-предшественниц, их миграцию и дифференцировку в нервные элементы (нейроны). Предполагается, что в качестве составляющей нейрогенеза можно рассматривать процессы, происходящие с клетками-предшественницами вплоть до их функциональной интеграции в существующие структуры мозга. Нейрогенез протекает у всех млекопитающих и человека как в анте-, так и в постнатальном периоде онтогенеза. Этот процесс неразрывно связан с глиогенезом, отличающимся от первого направлением дифференцировки клеток-предшественниц и обеспечивающим существование в мозге клеток макроглии. До конца 80-х годов XX века факт появления в мозге новых клеток, дающих начало нервным и глиальным клеткам, у человека после рождения, отвергался. Однако позже было показано, что в мозге как млекопитающих,

так и человека имеются области, являющиеся стабильными источниками стволовых прогениторных клеток. Основными зонами пролиферации стволовых клеток в мозге являются субвентрикулярная зона (СВЗ) латеральной стенки боковых желудочков и субгранулярный слой зубчатой фасции гиппокампа.

Пролиферация стволовых клеток в указанных зонах, миграция и встраивание новых клеточных элементов в мозге обеспечивают восполнение его клеточного состава (Ярыгин К. Н., Ярыгин В. Н., 2012). Так, наиболее интенсивно восполняемой областью мозга являются обонятельные луковицы. Путь от пролиферативной зоны в стенке боковых желудочков до обонятельных луковиц называют большим, или ростральным, миграционным путём (трактом). Большое число клеток-предшественниц, ежедневно образуясь и мигрируя по этому пути, дифференцируются до соответствующего фенотипа и встраиваются, заменяя погибшие клеточные элементы. Таким образом обеспечивается постоянное обновление клеточного состава нейронов обонятельных луковиц. Новые нейральные клетки-предшественницы, образующиеся в зубчатой фасции гиппокампа, как правило, локализуются в субгранулярном слое. Предполагается, что нейральные клетки-предшественницы, появляющиеся в субгранулярном слое зубчатой фасции, обеспечивают восполнение клеточного состава самого гиппокампального комплекса — структуры, отвечающей за хранение следов памяти и нередко повреждающейся при различных неблагоприятных воздействиях на мозг.

Несмотря на то, что основными пролиферативными зонами ЦНС считаются латеральная стенка боковых желудочков и зубчатая фасция гиппокампа, известны и другие локализации пролиферирующих клеток. Среди таких зон называют кору больших полушарий (КБП) (Gould E. *et al.*, 1999; Arsenijevic Y. *et al.*, 2001), чёрную субстанцию (Lie D. C. *et al.*, 2002) и другие области головного и спинного мозга.

В норме (в покое и при различных физиологических нагрузках, требующих приспособительных перестроек организма), а также при экстремальных и повреждающих воздействиях на организм пролиферация клеток в головном мозге обеспечивает возможность протекания, соответственно, гомеостатического и адаптив-

ного/репаративного гистогенеза нервной ткани (Ярыгин К. Н., Ярыгин В. Н., 2012). Многими исследователями показано, что чрезмерные стрессовые воздействия могут негативно сказываться на интенсивности пролиферации нейтральных стволовых клеток (НСК) во взрослом мозге — приводить к ослаблению или подавлению нейрогенеза (Gould E. *et al.*, 1997, 1998; Czéh B. *et al.*, 2002; van der Hart M. G. *et al.*, 2002; Dranovsky A., Hen R., 2006). В экспериментах на животных при моделировании депрессивноподобных состояний, — в частности, при воздействии хронического зоосоциального стресса — наблюдалось уменьшение числа пролиферирующих клеток в гиппокампе (Westenbroek C. *et al.*, 2004; Mitra R. *et al.*, 2006). В отдельных исследованиях сообщается об изменении пролиферативной активности в нетипичных зонах нейрогенеза: зарегистрировано, в частности, ослабление пролиферативной активности как в гиппокампе, так и в миндалине у мышей при воздействии зоосоциального стресса (Mitra R. *et al.*, 2006). Рядом исследователей показано, что нарушение процессов нейрогенеза может иметь место при депрессии у человека (Dranovsky A., Hen R., 2006; Elder G. A. *et al.*, 2006; Paizanis E. *et al.*, 2007). В литературе рассматривается вопрос о вовлечённости нарушений нейрогенеза в развитие депрессивных отклонений психики у человека, а также о влиянии на эти процессы антидепрессантов (Campbell S., MacQueen G., 2004; Boldrini M., Arango V., 2010; Ho Y. C., Wang S., 2010; Samuels B. A., Hen R., 2011) и других фармакологических препаратов (Jin K. *et al.*, 2004; Тимошенко Т. В., 2009; Hunt J. *et al.*, 2010). Согласно результатам исследований, ухудшения в работе памяти, поведенческие и эмоциональные отклонения, наблюдающиеся у пациентов при депрессии, могут являться следствиями ослабления нейрогенеза (Bremner J. D., 2006a, b). По мнению исследователей, появление новых нейтральных клеток-предшественниц в зубчатой фасции гиппокампа обуславливает проявление ряда эффектов антидепрессантов и играет определённую роль в модуляции уровня настроения у пациентов, страдающих депрессией (Samuels B. A., Hen R., 2011). Однако существуют исследования, показывающие, что депрессивноподобная ангедоническая симптоматика в хронической модели депрессии

у мышей может развиваться вне зависимости от изменений процессов нейрогенеза (Jayatissa M. N. *et al.*, 2010).

Ослабление нейрогенеза при депрессии рассматривается исследователями в качестве одного из механизмов развития структурных нарушений в гиппокампе и других областях мозга (Abrous D. N. *et al.*, 2005; Krishnan V., Nestler E. J., 2008; Bar M., 2009). В литературе обсуждается гипотеза о том, что ослабление нейрогенеза является следствием системных изменений в ЦНС, обусловленных дендритным ремоделингом в ответ на эксайтотоксическую глутаматергическую стимуляцию (Gorman J. M., Docherty J. P., 2010).

Известно, что в регуляции процессов нейрогенеза – как интенсивности появления клеток-предшественниц в мозге, так и скорости их дифференцировки – играют роль различные нейромедиаторы. Существенная роль в регуляции нейрогенеза отводится серотониновым рецепторам (Хожай Л. И., 1999; Угрюмов М. В., 2009; Пронина Т. С. и др., 2010; Klempin F. *et al.*, 2010), рецепторам к дофамину (O’Keeffe G. C. *et al.*, 2009; Kim Y. *et al.*, 2010; Veena J. *et al.*, 2011), норадреналину (Jhaveri D. J. *et al.*, 2010) и рецепторам других нейромедиаторных систем. Одну из ключевых ролей в регуляции нейрогенеза отводят гормональной регуляции его процессов, в частности, — активности ГГНС. Известно, что значительное влияние на процессы нейрогенеза оказывает действие глюкокортикоидов (McEwen B. S., Magarinos A. M., 2001; Alfarez D. N. *et al.*, 2006; Brummelte S., Galea L. A., 2010; Schoenfeld T. J., Gould E., 2013). Также стоит учитывать, что интенсивность процессов нейрогенеза в мозге связана с содержанием в тех или иных его областях соответствующих нейротрофических факторов. Сообщается, что у пациентов, страдающих ПТСР, отмечается снижение уровня BDNF в плазме крови (Dell’osso L. *et al.*, 2009). Однако причины, приводящие к ослаблению нейрогенеза при постстрессовой патологии, остаются не до конца известными.

Нарушение процессов нейрогенеза занимает, до некоторой степени, промежуточное значение между функциональными и структурными изменениями, происходящими в организме при стрессовых воздействиях. Интенсивностью процессов нейрогенеза, вероятно, в значительной мере обусловлена структурно-функцио-

нальная пластичность мозга, способность к обновлению его структурного состава и поддержанию функционирования нейронных сетей.

До настоящего момента не было показано факта нарушения интенсивности нейрогенеза при ПТСР и острой психогенной травме.

Согласно результатам *postmortem*-исследований головного мозга пациентов, страдавших ПТСР, в ткани мозга выявлена дизрегуляция экспрессии митохондриальных генов (Su Y. A. *et al.*, 2008). Наибольшие количественные показатели дизрегуляции из числа этих генов относятся как к собственно митохондриальной патологии, так и к нарушению процессов окислительного фосфорилирования, выживания клеток или запуска апоптоза и неврологическим расстройствам.

Сообщается о повреждении нейронов, уменьшении их числа, ослаблении пролиферативной активности и запуске апоптотических процессов в гиппокампе при воздействии различных видов хронического стресса (Nowak B. *et al.*, 2010). Также было показано, что нейроны гиппокампа, подвергавшиеся чрезмерному воздействию кортикостерона в эксперименте, становились более подверженными действию экзогенных нейротоксинов (Conrad C. D. *et al.*, 2007).

Известен ряд патологических состояний, при которых наблюдается ослабление или отсутствие иммуноцитохимической реакции на конститутивный белок NeuN (neuronal nuclei) в нейронах (Tippett L. J. *et al.*, 2007; Кирик О. В. и др., 2009; Butler T. R. *et al.*, 2010; см. также: Коржевский Д. Э. и др., 2010, 2012). Характер такого нарушения в структурах мозга, как правило, является спорадическим, т. е. отсутствие реакции на NeuN в одних клетках наблюдается при её сохранении в других клетках той же структуры. Считается, что маркер NeuN может служить своеобразным показателем функциональной активности нервных клеток (Коржевский Д. Э. и др., 2006b). Учитывая сведения о возможном нарушении синтеза NeuN в структурах мозга при гипоксических/ишемических поражениях ЦНС, можно ожидать нарушения синтеза этого белка в мозге и при стрессовых воздействиях. Тем не менее, данных об изменении интенсивности или исчезновении реакции на NeuN в нервной системе на каких-либо моделях стресса, постстрессовых или депрессивных расстройств в литературе нет.

1.7. Медиаторные концепции формирования эмоциональных и поведенческих расстройств

В норме у человека и животных поведение, эмоции и резистивность к стрессовым воздействиям регулируются поддержанием оптимального баланса нейромедиаторов в мозге. При нарушениях метаболизма, связанных с внутренними или внешними событиями, естественная активность нейромедиаторных систем может изменяться. Вследствие недостатка в организме субстрата для синтеза медиаторов или затруднения по каким-либо причинам реакций их синтеза содержание транзиттеров в синаптических везикулах нервных клеток снижается. К ослаблению активности нейромедиаторных систем и снижению количества высвобождаемых медиаторов могут приводить стрессовые воздействия, влияние токсических веществ, некорректное применение психотропных препаратов. Проявлениями нарушений в работе нейромедиаторных систем являются отклонения в поведении, эмоциональных реакциях, снижение уровня настроения (Нуллер Ю. Л., Михаленко И. Н., 1988; Мосолов С. Н., 2005). Вследствие длительного воздействия неблагоприятных психогенных факторов могут накапливаться неотрагированные эмоциональные переживания и нарушаться нормальная стресс-реактивность организма. Травматические стрессовые воздействия могут приводить, наряду с изменением активности нейромедиаторных систем, к смещению базального уровня глюкокортикоидов в крови в сторону его повышения (Deuschle M. *et al.*, 1997; Wong M. L. *et al.*, 2000). Чувствительность рецепторов к глюкокортикоидам и/или плотность их расположения в тканях при этом снижаются. Также имеются данные, указывающие на обратный ход нейроэндокринных нарушений при постстрессовой патологии — на снижение базального уровня глюкокортикоидов в крови в сочетании с повышением чувствительности/плотности расположения рецепторов к ним (Yehuda R., 2001). Однако структурные и молекулярно-клеточные основы формирования постстрессовых расстройств при действии острых психотравмирующих факторов на организм являются недостаточно изученными.

Существенный вклад в решение проблемы поиска механизмов развития аффективных расстройств вносят данные о метаболических путях медиаторов мозга. Среди нейромедиаторов, нарушение метаболизма которых может обуславливать формирование различных поведенческих и эмоциональных нарушений при пост-стрессовых расстройствах, называют серотонин и катехоламины — транмиттеры, объединённые общим субстратом синтеза и ферментами, участвующими в их деградации. Предполагается, что нарушение работы одной нейромедиаторной системы, таким образом, должно сопровождаться отклонениями в функционировании других.

К биогенным аминам (моноаминам) относят катехоламины (адреналин, норадреналин, дофамин), а также серотонин и многие другие соединения. В организме моноамины могут играть роль гормонов и нейромедиаторов (Ноздрачев А. Д. и др., 2002). В первом случае они синтезируются клетками мозгового вещества надпочечников, выделяются в кровь и, таким образом, регулируют деятельность сердечно-сосудистой системы, эпителия желёз и процессы углеводного обмена (Чернышева М. П., 1995). Во втором случае биогенные амины осуществляют передачу нервного импульса от нейрона к нейрону. При этом они накапливаются в пресинаптических нервных окончаниях, под действием нервного импульса выбрасываются в синаптическую щель и затем взаимодействуют с рецепторами постсинаптического окончания. Значительная часть неразрушенного медиатора поступает в пресинаптическое окончание, где используется посредством депонирования для повторного использования в синаптических пузырьках или подвергается последующей ферментативной деградации. В мозге моноамины играют важную роль в регуляции эмоционального поведения, двигательной активности, пищевого поведения и сна (Зайко Н. Н. и др., 1994; Мосолов С. Н., 1995; Charney D. S., 2004).

Одной из функций, которую биогенные амины выполняют в организме человека и животных, является участие в формировании эмоций (Вальдман А. В. и др., 1976; Поляков Е. Л., Ячменева Е. Ю., 1981; Звартау Э. Э., 1983, 1988; Талалаенко А. Н., Борейша И. К., 1983; Талалаенко А. Н., 1984; Польшин В. В., 1985;

Хамильтон Л. У., 1985; Чепурнов С. А., Чепурнова Н. Е., 1985; Вартанян Г. А., Петров Е. С., 1989, 1992; Weiner H. *et al.*, 1989; Шабанов П. Д., 2000). В последнее время появились данные о том, что различия в популяции по полиморфизмам в промотерной области гена 5-НТ_{1А}-рецептора серотонина у человека проявляются в различном уровне настроения в норме (Strobel A. *et al.*, 2003).

Нарушение метаболизма моноаминов способно приводить к появлению психических и эмоциональных расстройств. В частности, предполагается, что на патогенез шизофрении существенное влияние оказывает нарушение метаболизма дофамина, на патогенез депрессии — норадреналина и серотонина (Байчурина А. З., Семина И. И., 1992; Раевский К. С., 1992; Раевский К. С. и др., 1996; Misale C. *et al.*, 2000). Вместе с тем, роль биогенных аминов при развитии эмоциональных нарушений изучена недостаточно.

В 1965 г. на основании фармакологических и биохимических данных была сформулирована моноаминовая гипотеза патогенеза депрессии (Нуллер Ю. Л., Михаленко И. Н., 1988). Первоначально эта гипотеза сводилась к тому, что при эндогенной депрессии в мозге имеется дефицит норадреналина и/или серотонина. В настоящее время считается, что депрессия сопровождается нарушением метаболизма биогенных аминов. При этом показано, что в одних структурах мозга концентрация катехоламинов и серотонина может уменьшаться, а в других — увеличиваться (Августинович Д. Ф. и др., 2004).

Важным направлением в исследовании роли биогенных аминов в организме является использование различных моделей тех или иных нарушений. Так, для исследования роли в патогенезе депрессии биогенных аминов, синтезирующихся в мозге, используют модели на животных. Известны линии животных, демонстрирующих депрессивноподобную поведенческую симптоматику и другие (соматические) явления, во многом совпадающие с клинической картиной депрессии у человека. В частности, крысы линии FSL (Flinders sensitive line) характеризуются сниженным уровнем локомоторной активности, сниженной массой тела, увеличенной длительностью БДГ(быстрые движения глаз)-фазы сна, когнитивными нарушениями (Overstreet D. H., 1993), а также стресс-индуцируемой ангедонией

(Pucilowski O. *et al.*, 1993). Показано, что у крыс линии FSL уровень внеклеточного дофамина в прилежащем ядре на 40 % ниже в сравнении с контролем. При этом у данных животных, в отличие от контрольных, концентрация дофамина в прилежащем ядре в ответ на введение серотонина не увеличивается. После хронического введения антидепрессанта дезипрамина инъекция серотонина в прилежащее ядро вызывает увеличение уровня дофамина. Эти сведения позволяют предположить, что нарушение баланса активности между серотонинергической и дофаминергической нейромедиаторными системами является одним из факторов, способствующих развитию депрессии.

Изменение уровня нейромедиаторов в мозге может, с одной стороны, способствовать проявлению патологических процессов в организме (в частности, депрессии), а с другой — препятствовать их развитию. Развитие депрессии сопровождается проявлением характерных эмоциональных нарушений. Важную роль в формировании эмоций играют структуры лимбической системы: миндалина, гиппокамп. Можно предположить, что моноамины, содержащиеся в этих структурах, вовлечены в процессы патогенеза депрессии, вызванной психогенной травмой.

Нейробиологические исследования механизмов развития аффективных расстройств долгое время концентрируются на моноаминах. Тем не менее, данные по нейромедиаторной активности моноаминов при таких расстройствах противоречивы. Одни исследователи отмечают снижение их активности, другие — повышение. В частности, у некоторых пациентов с паническими расстройствами, ПТСР и большой депрессией имеется повышение норадреналиновой активности голубого пятна (Geraciotti T. D. Jr *et al.*, 2001), в то время как основной концепцией для тревожно-депрессивных расстройств остаётся снижение оборота моноаминов в мозге. Моноаминовая концепция аффективных расстройств, оставаясь ведущей, претерпевает некоторую трансформацию в сторону понимания генеза постстрессовых состояний как результата нарушения взаимодействия этих систем и дисбаланса медиаторной передачи (de Kloet E. R., 2000).

На основе этого подхода создано значительное количество антидепрессантов. Среди них широко известны препараты, оказывающие влияние на метаболизм

серотонина в ЦНС. Применение при постстрессовых расстройствах «серотониновых» препаратов, предназначенных для коррекции поведенческих и эмоциональных нарушений, осложнено тем, что усиление выброса серотонина в мозге может иметь как анксиолитический, так и анксиогенный эффекты, зависящие от вовлечённости в их реализацию различных областей переднего мозга и преимущественной стимуляции соответствующих подтипов серотониновых рецепторов, например, — 5-HT_{1A} или 5-HT_{2A} (Charney D. S., Drevets W. C., 2002). Показано, что плотность 5-HT_{1A}-рецепторов в мозге может снижаться при депрессиях (Drevets W. C., 1999) и у пациентов с паническими расстройствами (Neumeister A. *et al.*, 2004). Имеются сведения о том, что при депрессии может наблюдаться снижение чувствительности 5-HT_{1A}-рецепторов (Gartside S. E. *et al.*, 2003). Это свидетельствует о вовлечённости нарушений серотонинергической нейромедиаторной системы мозга в патогенез постстрессовых аффективных расстройств, однако механизмы, обеспечивающие при этом формирование поведенческих и эмоциональных отклонений, до настоящего времени остаются недостаточно изученными. По предположению исследователей, снижение плотности расположения в мозге, в частности, 5-HT_{1A}-рецепторов при депрессии может быть обусловлено гистопатологическими изменениями в его структурах (Drevets W. C., 1999). Существенным недостатком «серотониновых» и «норадреналиновых» препаратов является полное отсутствие позитивного ответа на их приём у трети больных с депрессивными расстройствами. Помимо серотонин- и норадреналинергической систем, значительное внимание исследователей в последнее время привлекает дофаминергическая система (Krishnan V., Nestler E. J., 2008; Wolkowitz O. M., 2009). Различные клинические исследования показали увеличение концентрации дофамина в моче и плазме крови при ПТСР (Hamner M. B., Diamond B. I., 1993) и, наоборот, снижение его метаболизма при депрессивном синдроме (Lambert G. *et al.*, 2000). В связи с этим активно изучается вовлечённость дофаминовой системы в формирование и поддержание депрессивных состояний и ПТСР. Агонисты дофаминовых рецепторов в настоящее время тестируются на предмет использования в качестве потенциальных антидепрессантов (Mathew E. S. *et al.*, 2008).

Несмотря на отсутствие стройных представлений об активности моноаминовых систем мозга при ПТСР, для его лечения в клинической практике начали использовать различные антидепрессанты, имея в виду выраженную представленность депрессивного синдрома в данном заболевании (Аведисова А. С., 2009; Frančišković T. *et al.*, 2011). Поскольку имеются данные о том, что серотонин, дофамин и норадреналин участвуют в регуляции нейрогенеза, высказываются предположения об опосредованной активации нейрогенеза антидепрессантами, влияющими на содержание моноаминов в мозге, как об одном из механизмов терапевтического действия таких препаратов (Santarelli L. *et al.*, 2003; Bremner J. D., 2006a). Исследования роли нейрогенеза в механизмах аффективных расстройств начинают активно развиваться во многих зарубежных научных центрах.

1.8. Участие нейромедиаторов в регуляции нейрогенеза

Регуляция интенсивности пролиферации, а также координация процессов миграции, дифференцировки, выживания и функционального встраивания клеток во взрослом мозге осуществляется посредством различных нейрохимических и гормональных факторов. Сюда относят нейромедиаторы, нейромодуляторы, нейротрофические факторы, гормоны (надпочечников, половых желёз) и др. Одним из наиболее важных факторов влияния на процессы нейрогенеза называют глюкокортикоидные гормоны, напрямую регулирующие уровень пролиферации (McEwen B. S., Magarinos A. M., 2001; Alfarez D. N. *et al.*, 2006; Brummelte S., Galea L. A., 2010; Schoenfeld T. J., Gould E., 2013). Следующими за ними считаются нейромедиаторы ЦНС, от баланса которых в мозге зависит регуляция процессов нейрогенеза. Среди исследований, посвящённых изучению регуляции нейрогенеза имеются данные об участии в ней серотонина (Хожай Л. И., 1999; Угрюмов М. В., 2009; Пронина Т. С. и др., 2010; Klempin F. *et al.*, 2010), дофамина (O'Keefe G. C. *et al.*, 2009; Kim Y. *et al.*, 2010; Veena J. *et al.*, 2011), норадреналина (Jhaveri D. J. *et al.*, 2010) и других нейромедиаторов.

Различные типы рецепторов связывают с разными эффектами медиатора на нейрогенез. Показана возможность регуляции нейрогенеза посредством влияния

флуоксетина – селективного ингибитора обратного захвата серотонина – на метаболизм серотонина и интенсивность пролиферации клеток-предшественниц во взрослом мозге (Encinas J. M. *et al.*, 2006). При этом сообщается, что увеличение продукции новых нейронов может являться важным фактором в реализации поведенческих эффектов антидепрессантов (Malberg J. E., 2004; Abrous D. N. *et al.*, 2005; Dranovsky A., Hen R., 2006; Paizanis E. *et al.*, 2007; Rodriguez Bambico F., Belzung C., 2013). Эти сведения имеют высокую значимость для работ в области изучения патогенеза аффективных расстройств, так как предполагают возможность разработки соответствующих фармакологических мишеней в лечении этих заболеваний. Учитывая вовлечённость различных нейромедиаторных систем в регуляцию нейрогенеза, становится объяснимой отсроченность клинических эффектов антидепрессантов, наблюдаемая при лечении депрессивных расстройств (Santarelli L. *et al.*, 2003). Известно, что наступление клинического эффекта применения антидепрессантов при депрессии наступает не ранее двух-трёх недель от начала приёма препарата. Отсроченность эффекта представляется возможным объяснить за счёт изменения в течение указанного срока интенсивности пролиферации в нейрогенных зонах мозга и облегчения миграции нейробластов к областям их окончательной дифференцировки и встраивания. Кроме того, подтверждение этой гипотезы позволило бы ответить на вопрос о первичной или вторичной вовлечённости нарушений нейрогенеза, наряду с дисбалансом нейромедиаторных систем, в патогенез депрессивных расстройств.

Сообщается, что опосредованное влияние на интенсивность гиппокампального нейрогенеза, а также на степень проявления депрессивноподобных нарушений у крыс, в соотношении с фармакологическим эффектом препаратов антидепрессивного ряда, оказывает миндалина (Castro J. E. *et al.*, 2010).

Также среди нейромедиаторов, оказывающих влияние на процессы нейрогенеза, упоминается NO (моноксид азота) (Contestabile A., 2000, 2008; Gibbs S. M., 2003; Cárdenas A. *et al.*, 2005; Estrada C., Murillo-Carretero M., 2005; Filipkowski R. K. *et al.*, 2005; Matarredona E. R. *et al.*, 2005; Zhou L., Zhu D. Y., 2009; Peña-Altamira E. *et al.*, 2010). Отмечается, что он обладает ингибирующим

действием по отношению к интенсивности пролиферации. В отдельных исследованиях сообщается о роли NO не только в регуляции нейрогенеза, но и вовлечённости этого медиатора, наряду с другими нейротрансмиттерами, в формирование поведенческих последствий переживания стресса (Josa S. R. *et al.*, 2007).

Вместе с тем, имеющиеся сведения о вовлечённости различных нейромедиаторов, гормонов и нейротрофических факторов в регуляцию процессов пролиферации, миграции и дифференцировки НСК во взрослом мозге являются обрывочными и не дают стройных, системных представлений о механизмах регуляции нейрогенеза в ЦНС. Экспериментальных данных о влиянии витального стресса на нейрогенез в литературе нет.

1.9. Проблемы моделирования психогенной аффективной патологии

Моделирование психопатологий осуществляется различными методами. Среди них известны физические, фармакологические, генетические, этологические, ольфакторные и психогенные модели. Однако в исследованиях психогенной аффективной патологии единственным, подходящим по этиологическому фактору, является психогенный способ воздействия на экспериментальных животных. В числе психогенных методов воздействия используют зоосоциальный стресс, конфликты иерархических взаимоотношений, предъявление животным хищника. Для наиболее адекватного сравнения патологических изменений, могущих развиться у животных при воздействии психогенного стрессора, с проявлениями психогенной патологии у человека, необходимо использование стимула, максимально приближенного по этиологическому признаку к тем, которые встречаются в неблагоприятных стрессовых ситуациях у человека.

Исследователи выделяют ряд свойств, которыми может обладать модель патологии. К ним относятся чувствительность, поведенческая валидность, нейрофармакологическая валидность, релевантность, а также надёжность модели. Известны критерии правомочности использования моделей психопатологий (Leonard B. E., 1989; Coupland N. J., Nutt D. J., 1995). Пригодная для использования

модель психопатологии должна соответствовать следующим четырём критериям: а) сходной этиологии; б) сходной симптоматики, напоминающей клинические проявления моделируемого заболевания у человека; в) сходного нейрофизиологического субстрата; г) чувствительности к действию специфических фармакологических препаратов.

Модели психопатологий классифицируют по сложности, временной динамике, патогенезу, характеру моделируемых симптомов, особенностям поведенческого ответа, периодам онтогенеза, количеству используемых видов животных. По временной динамике среди моделей психопатологий выделяют острые, субхронические и хронические модели. Модель психической травмы соответствует острому типу моделей психопатологии, т. к. предполагает однократное воздействие на животных с последующим наблюдением развивающихся у них нарушений. Сроки изучения последствий однократной психической травмы могут быть различными, в зависимости от интересующего компонента патогенеза моделируемого расстройства, — от получаса (исследование острой реакции эндокринной системы на стресс) до нескольких месяцев (долговременное изучение динамики посттравматических отклонений в поведении животных).

Для решения практических задач в области изучения патогенеза психогенных аффективных расстройств требуется адекватный и легко воспроизводимый способ моделирования данного вида патологии. Моделирование психогенных аффективных расстройств на животных осложнено тем, что в экспериментальных условиях является достаточно сложным подобрать этиологический фактор, сопоставимый с теми факторами, действию которых подвергается человек.

В наших исследованиях использована оригинальная модель психогенной травмы, в которой психотравмирующим фактором является переживание ситуации угрозы собственной жизни и обстоятельств гибели сородича у крыс от действий питона (Цикунов С. Г. и др., 2000, 2005а, 2006; Tsikunov S. G. *et al.*, 2003). Использование такого подхода позволяет изучать влияние «чистой» психогенной травмы (витального стресса) без какого-либо физического или химического воздействия на организм экспериментального животного.

1.10. Современные морфологические подходы к оценке структурно-функциональных изменений в центральной нервной системе

Современные гистологические методы, базирующиеся, в т. ч., на иммунных механизмах взаимодействия используемых агентов с выявляемыми в образцах тканей маркёрами, позволяют регистрировать цитохимические изменения, происходящие в организме при различных патологических состояниях. С использованием современной гистологической техники возможно исследование не только тонкой структурной организации интересующих областей в каких-либо органах и тканях, но и получение сведений о преимущественном расположении выявляемых маркёров в ядре или цитоплазме клетки и т. п.

Одним из приоритетных направлений исследований, касающихся изучения ЦНС, является исследование нейрогенеза, наблюдающегося и во взрослом мозге у млекопитающих и человека. Это явление вовлечено во многие нормальные и патологические процессы и реакции, происходящие в головном мозге в течение жизни особи или индивида. Нарушение процессов нейрогенеза связывают с развитием депрессивных расстройств, нейродегенеративных заболеваний и многих других современных медицинских проблем. Исследование интенсивности нейрогенеза и его внутренних процессов при различных заболеваниях у человека представляется маловозможным, поскольку оно должно быть связано или с непосредственным прижизненным вмешательством в ткань мозга или с отдалёнными последствиями воздействия радионуклидов как на организм пациента, так и самих исследователей. Посмертное исследование нейрогенеза у человека остаётся недоступным, в том числе из-за скорого разрушения многих антигенов в тканях головного мозга после смерти. Существуют отдельные исследования, посвящённые разработке возможности изучения процессов нейрогенеза прижизненно. Однако до настоящего дня основным подходом к его изучению остаётся всё же моделирование патологических состояний на животных и гистологическое исследование их головного мозга.

Изучение пролиферации клеток различных тканей составляет одну из фундаментальных задач гистологии и эмбриологии. В течение длительного времени в арсенале исследователей имелся ограниченный набор методов, позволяющих выявлять клетки, которые готовятся к делению, и оценивать пролиферативную активность ткани. Так, ещё 30–40 лет назад в гистологических исследованиях для выявления популяции пролиферирующих клеток использовали только три методических подхода: определение митотического индекса, метод цитофотометрии препаратов, окрашенных по Фельгену, и метод автордиографии с ^3H -тимидином.

В последние десятилетия в связи со значительными успехами молекулярной биологии и иммунологии у морфологов появилась возможность иммуноцитохимически маркировать клетки, проходящие различные фазы клеточного цикла. Новые методы основаны на возможности иммуноцитохимического выявления антигенов — белков и модифицированных нуклеозидов, которые участвуют в подготовке клетки к делению. Обилие маркеров пролиферации, отсутствие устоявшихся представлений об их функциональной роли и противоречия в результатах, получаемых при использовании различных антител, создают определённые трудности для гистологов в выборе их оптимального набора при решении конкретной задачи исследования, в частности, для изучения пролиферации клеток-предшественниц в головном мозге животных на модели ПТСР.

Автордиография является одним из наиболее ранних методов изучения пролиферации в тканях. Тем не менее, метод гисторадиоавтографии с использованием ^3H -тимидина (меченного тритием) до настоящего времени сохраняет значение «золотого стандарта» при выявлении клеток, осуществляющих синтез дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).

Тимидин — единственный из четырёх нуклеозидов, участвующих в образовании полинуклеотидной структуры ДНК, который отсутствует в РНК. Меченная ^3H -тимидином вновь синтезированная молекула ДНК стабильна, и «разбавление» такой метки происходит лишь в ходе последовательных клеточных делений (Епифанова О. И. и др., 1977).

К числу достоинств радиоавтографии с ^3H -тимидином относятся быстрота включения тимидина в клетки, синтезирующие ДНК, и относительно недолгое пребывание меченого нуклеозида в несвязанном состоянии в организме. В экспериментальных исследованиях на млекопитающих было показано, что уже через несколько минут после внутрибрюшинного или внутривенного введения ^3H -тимидин исчезает из плазмы крови и включается в ДНК (Quastler H., Sherman F. D., 1959). Позднее было установлено, что максимальное включение ^3H -тимидина в ДНК наблюдается через 40 мин после его введения (Koburg E., Maurer W., 1962).

Недостатками метода радиоавтографии являются ограничения на его использование в клинических исследованиях, необходимость строгого соблюдения норм радиационной безопасности при работе с источниками ионизирующих излучений, а также длительная экспозиция фотоэмульсии (несколько недель), что ведёт к существенному замедлению исследования. Кроме того, использование данного метода для выявления медленно пролиферирующих клеток связано с повышением общего облучения животных, что может негативно сказываться на их состоянии. В связи с этим, метод автордиографии нежелательно использовать для оценки пролиферативной активности в головном мозге при изучении последствий экспериментальной психогенной травмы.

Для того, чтобы устранить недостатки радиоавтографического метода выявления пролиферирующих клеток, было предложено использовать нерадиоактивный аналог тимидина — синтетический нуклеозид 5-бром-2'-дезоксинуридин (BrdU; 5-bromo-2'-deoxyuridine) (Gratzner H. G., 1982). После включения BrdU в молекулу ДНК его можно определять при помощи моноклональных антител. Этот метод обладает многими преимуществами радиоавтографии с ^3H -тимидином и может быть использован в клинической диагностике (Упоров А. В. и др., 1997; Упоров А. В., 1998). Прижизненное введение BrdU в экспериментальных исследованиях позволяет проследить судьбу пролиферирующих клеток через несколько дней и даже недель после его введения.

К недостаткам BrdU можно отнести его токсичность для включающих его клеток. Так как он является модифицированным нуклеозидом, ему свойственно

сильное мутагенное действие. Образование связи BrdU с аденином во вновь синтезированной молекуле ДНК приводит к появлению точечных мутаций — транзиций (Xu F. M. *et al.*, 1990), а также к блокированию транскрипции некоторых генов (Епифанова О. И. и др., 1977). Кроме того, BrdU может индуцировать хромосомные разрывы в гетерохроматиновых областях (Sutherland G. R., 1988). Таким образом, и этот метод не может быть признан оптимальным для изучения мозга животного при воздействии психогенного стресса.

Помимо меченых нуклеозидов, в качестве маркеров пролиферации используют ряд белков, участвующих в регуляции клеточного цикла. Некоторые из этих белков экспрессируются в клетке только в определённую фазу цикла. В S-фазе экспрессируются белки, участвующие в метаболизме ДНК (репликации, репарации, рекомбинации). К таким белкам относятся PCNA (proliferating cell nuclear antigen; ядерный антиген пролиферирующих клеток) и FEN-1 (flap structure-specific endonuclease 1; флэп-эндонуклеаза 1).

PCNA — консервативный белок массой 36 кДа (Bravo R. *et al.*, 1981), имеющийся у всех животных и растений. Он является вспомогательным белком для ДНК-полимераз δ и ϵ , которые участвуют в репликативном синтезе отстающей цепи ДНК, синтезе фрагментов Оказаки, а также в эксцизионном репаративном ресинтезе ДНК (Levin D. S. *et al.*, 1997; Yuzhakov A. *et al.*, 1999; Maga G. *et al.*, 2001). PCNA обнаруживается в ядрах клеток в S-фазе цикла (Takasaki Y. *et al.*, 1981; Bravo R., Macdonald-Bravo H., 1985, 1987). В интерфазных клетках, подвергшихся воздействию ультрафиолетового излучения, PCNA появляется при репаративном синтезе ДНК (Celis J. E., Madsen P., 1986; Toschi L., Bravo R., 1988). PCNA является основным компонентом репликативного комплекса, он помогает ДНК-полимеразе δ удерживаться на цепи ДНК: три молекулы PCNA образуют кольцевой тример с отверстием для двунитевой ДНК в центральной части, который представляет собой перемещающуюся по ДНК подвижную платформу, или «скользящую скрепку» (sliding clamp), удерживающую ДНК-полимеразу в ходе полимеризации на матрице и обеспечивающую высокопроцессивный синтез ДНК (в 10–100 раз выше, чем в отсутствие

PCNA) (Cox L. S., 1997; Schurtenberger P. *et al.*, 1998). PCNA образует связи и с другими белками: RF-C, FEN-1, Gadd45, p21, циклинами группы D (Matsuoka S. *et al.*, 1994; Waga S. *et al.*, 1994; Smith M. L. *et al.*, 1994; Hall P. A. *et al.*, 1995; Li X. *et al.*, 1995; Kelman Z., 1997; Gary R. *et al.*, 1997).

Относительным недостатком PCNA является его медленный катаболизм после завершения S-фазы цикла (Bravo R., Macdonald-Bravo H., 1987). Однако эта особенность может быть использована для более полного выявления пролиферирующих клеток в медленно обновляющихся тканях, в частности, — в нервной ткани. Наиболее часто для выявления антигена PCNA используются антитела клона PC10. Проведение иммуноцитохимической реакции на PCNA, как правило, не требует протеолитической или тепловой демаскировки антигена, что позволяет получать препараты высокого качества (Омельченко Н. В. и др., 1998; Коржевский Д. Э. 1999, 2000). Таким образом, именно от PCNA можно ожидать наиболее интересных результатов при изучении пролиферативной активности клеток головного мозга у животных на модели ПТСР.

При изучении дифференцировки нейтральных стволовых прогениторных клеток и других стволовых клеток в течение последнего десятилетия в качестве универсального нейронспецифичного маркера широко используется ядерный белок нервных клеток NeuN (neuronal nuclei) (Tanvig M. *et al.*, 2009).

NeuN является растворимым белком и имеет молекулярную массу 46–48 кДа. Он обладает способностью связываться с ДНК *in vitro* (Mullen R. J. *et al.*, 1992). Нуклеотидная последовательность, кодирующая этот белок, была неизвестна до недавнего времени. В 2009 г. было показано, что белок NeuN является продуктом гена Fox-3, относящегося к семейству генов Fox-1, выполняющих функцию регуляторов сплайсинга (Kim K. K. *et al.*, 2009). Однако сведения, имеющиеся о белке NeuN, не позволяют вполне судить о его функциях в нервной клетке.

Белок NeuN локализуется в ядрах и перинуклеарной цитоплазме большинства нейронов ЦНС млекопитающих. Этот маркер позволяет выявлять нейроны, но не обнаруживается в глиальных клетках. В других тканях, помимо нервной, его наличия установлено не было. Положительная иммуноцитохимическая реакция

на NeuN в ядре нервной клетки свидетельствует о её функциональной целостности (Коржевский Д. Э. и др., 2006b).

Синтез белка NeuN начинается в постмитотических нейробластах на достаточно поздних стадиях дифференцировки (Коржевский Д. Э. и др., 2008). Следует отметить, что этот белок обнаруживается не во всех нейронах. Известен ряд типов нервных клеток в ЦНС и периферической нервной системе, где NeuN не выявляется. Так, к нейронам, в норме не синтезирующим этот белок, относят клетки Кахаля – Ретциуса в неокортексе, ряд клеток мозжечка (Mullen R. J. *et al.*, 1992; Weyer A., Schilling K., 2003), нейроны нижних олив, митральные клетки обонятельных луковиц (Mullen R. J. *et al.*, 1992), клетки внутреннего ядерного слоя сетчатки (Mullen R. J. *et al.*, 1992; Wolf H. K. *et al.*, 1996), γ -мотонейроны в спинном мозге (Friese A. *et al.*, 2009; Shneider N. A. *et al.*, 2009) и клетки ганглиев симпатического ствола (Wolf H. K. *et al.*, 1996). Имеются противоречивые данные об особенностях экспрессии NeuN в клетках чёрного вещества (Kumar S. S., Buckmaster P. S., 2007; Cannon J. R., Greenamyre J. T., 2009).

В ряде исследований сообщается о различных патологических состояниях, при которых можно наблюдать ослабление или исчезновение иммуноцитохимической реакции на NeuN в нервных клетках. Среди таких случаев отмечают ишемическое повреждение нейронов стриатума (Кирик О. В. и др., 2009) и болезнь Хантингтона, при которой наблюдают прекращение синтеза NeuN нейронами отдельных участков стриатума (Tippett L. J. *et al.*, 2007). Кроме того, исчезновение реакции на NeuN наблюдается при эксайтотоксическом повреждении нервных клеток, когда имеет место селективное поражение пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа при чрезмерной стимуляции NMDA(*N*-methyl-D-aspartate; *N*-метил-D-аспартат)-рецепторов (Butler T. R. *et al.*, 2010).

С использованием маркера NeuN в нейрогистологических исследованиях появилась возможность проведения оценки функциональной целостности отдельных структур мозга и определения характера их повреждения при различных патологических процессах, в частности, — при воздействии витального стресса.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Формирование экспериментальных групп, условия содержания животных

Эксперименты выполнены на 126 лабораторных крысах линии Wistar массой 200–250 г, возрастом 4–5 мес. Животные содержались в стандартных условиях вивария (12-часовой световой день, свободный доступ к пище и воде, температура воздуха 20 ± 2 °С). Контрольные группы состояли из животных тех же партий, содержащихся в аналогичных условиях. Проведение исследований согласовано с Локальным этическим комитетом ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН; исследования соответствуют основным требованиям биомедицинской этики (European convention for the protection of vertebrate animals..., 1986).

2.2. Моделирование витального стресса

Использовали модель ПТСР у крыс, в которой психотравмирующим фактором является переживание ситуации угрозы жизни (Цикунов С. Г. и др., 2000, 2005а, 2006; Tsikunov S. G. *et al.*, 2003). При моделировании острого витального стресса крысы становились свидетелями гибели сородича от действий хищника — удава (тигровый питон; *Python molurus*). Экспериментальную группу крыс помещали в террариум 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.

2.3. Методы регистрации и оценки поведения животных

Регистрацию поведения животных проводили в тестах «Открытое поле», «Крестообразный приподнятый лабиринт», «Интродер – резидент» и тесте Порсолта (принудительного плавания). 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 регистрировали наличие и степень «депрессивности» крыс.

В применявшихся тестах регистрировали такие показатели как общее количество поведенческих актов, вероятность (частота возникновения) и длительность поведенческих паттернов или поведенческих состояний, оценивали суммарную длительность отдельных компонентов поведения, составляемых из нескольких паттернов одного типа. Также у крыс регистрировали графологическую структуру поведения, что позволяло оценить общий характер их поведенческих реакций и выявить наиболее высоковероятные переходы между различными паттернами — составляющими поведения.

Метод исследования индивидуального поведения животных в тесте «Открытое поле»

Установка для проведения теста «Открытое поле» (Hall C. S., 1934) представляла собой круглую площадку диаметром 80 см, ограниченную непрозрачными бортами высотой 30 см. На площадке равномерно располагались 16 отверстий («норок») диаметром 3 см каждое. Животное помещали в центр «поля» и в течение 3 мин регистрировали путём нажатия соответствующей клавиши этографа, связанного с компьютером, длительность и последовательность всех демонстрируемых животным поведенческих актов.

Идентификацию отдельных поведенческих единиц (актов, состояний), выделяемых для регистрации этограмм в тесте ОП, проводили на основе классификации индивидуального поведения, предложенной В. П. Пошиваловым

(Пошивалов В. П., 1986), с поправками В. В. Шабаева и Е. С. Петрова (Петров Е. С., 1988). Согласно этой классификации, в индивидуальном поведении различают:

- а) акты, ориентированные к окружающим предметам, — локомоция с принюхиванием, подъёмы на задние лапы (свободные и пристеночные), заглядывание в отверстия;
- б) поведение, ориентированное к собственному телу, — аутогруминг;
- в) индивидуальное поведение, не ориентированное к физическому окружению, — статичные формы поведения, когда животное сидит, лежит, либо динамичные — в виде целенаправленных прыжков или неориентированных пробежек.

В проводимых нами исследованиях данная классификация была принята в качестве основной.

Целостное поведение в тесте ОП включало в себя следующие дискретные акты: локомоция, обнюхивание, движение на месте, вертикальная стойка, стойка с упором на стенку, груминг, заглядывание в «норку», фризинг, покой. Показатели, характеризующие поведение животных в тесте ОП, рассчитывали с помощью компьютерной программы, специально разработанной сотрудниками Физиологического отдела им. И. П. Павлова. При оценке поведения в тесте ОП учитывалось, что горизонтальный и вертикальный компоненты двигательной активности находятся в определённой зависимости от эмоциональности животных и отражают уровень их ориентировочно-исследовательской деятельности (Миронов А. А., Чкалов А. В., 2005).

Метод исследования поведения животных в тесте «Крестообразный приподнятый лабиринт»

Для оценки уровня тревожности крыс исследовали их поведение в тесте «Крестообразный приподнятый лабиринт» (Pellow S. *et al.*, 1985). Лабиринт состоял из двух открытых «рукавов» 50 × 10 см и двух закрытых непрозрачными стенками «рукавов» 50 × 10 см с открытым верхом, пересекающихся крестообразно. Высота лабиринта над полом составляла 1 м. В начале теста

животное помещали в центр лабиринта, после чего, путём нажатия соответствующих клавиш этографа, связанного с компьютером, фиксировали время пребывания животного в закрытых и на открытых «рукавах», а также число и время актов свешивания с открытых «рукавов» и выглядывания из закрытых. Продолжительность тестирования составляла 5 мин.

***Метод исследования зоосоциального поведения животных
в тесте «Интрудер – резидент»***

Для анализа особенностей внутривидового поведения животных использовали тест «Интрудер – резидент» (Пошивалов В. П., 1986). Крысу-резидента помещали в обычную жилую клетку размерами 20 × 25 × 17 см с опилками на дне, где животное находилось в течение 1 ч. После этого в клетку подсаживали взрослую крысу-интрудера того же пола, но заведомо меньшего размера. В течение 5 мин регистрировали полную этограмму поведения крысы-резидента. Регистрация производилась экспериментатором путём последовательной записи каждого поведенческого акта или позы животного.

Внутривидовая коммуникация включала в себя следование за партнёром, обнюхивание партнёра, обнюхивание его генитальной области, груминг тела партнёра, наползание или подползание под него. Агрессия включала в себя угрозу в виде вертикальных или боковых стоек, атаку, укус, полную агрессивную позу. Защита включала в себя избегание партнёра (убегание), защитную стойку (при угрозе или атаке), позу подчинения «на спине». Индивидуальное, то есть не связанное с партнёром, поведение включало в себя локомоцию, обнюхивание, движение на месте, аутогруминг, вертикальные стойки, фризинг, покой. Классификация приведена согласно этологическим атласам поведения лабораторных грызунов (Grant E. C., Mackintosh J. H., 1963; Пошивалов В. П., 1986). Уровни агрессивности, коммуникативности и защитного поведения оценивали по вероятности появления элементов, образующих эти формы внутривидового поведения, во время проведения теста. На основании матрицы одношаговых переходных вероятностей определяли графологическую структуру агрессивного поведения.

Метод исследования поведения животных в тесте Порсолта

Оценку поведения животных в тесте Порсолта (принудительного плавания) осуществляли на основе классического метода Р. Д. Порсолта для мышей (Porsolt R. D. *et al.*, 1977) с незначительными модификациями, учитывающими бóльшие размеры животных, использованных в настоящем исследовании. Каждое животное отдельно помещали на 10 мин в стеклянный цилиндрический сосуд высотой 50 см и диаметром 30 см, заполненный тёплой водой (28–29 °С) до отметки на высоте 35 см. На протяжении опыта путём нажатия соответствующей клавиши этографа, связанного с компьютером, регистрировали актограмму, визуально контролируя движения крысы. Это позволяло оценивать в реальном времени изменение различных слагаемых плавания. Учитывали продолжительность активного (энергичные движения всеми лапами) и пассивного (слабые гребки задними лапами) типов плавания, а также длительность состояния неподвижности (иммобильности) животного. В соответствии со значениями, регистрируемыми, главным образом, по показателю иммобильности животных, оценивали наличие и степень депрессивноподобных отклонений в поведении (состояния «поведенческого отчаяния»).

Оценка результатов и статистическая обработка данных, полученных при тестировании поведения животных

Обработку данных, полученных при тестировании поведения животных, проводили в компьютерных программах SPSS 11.5 (IBM, США) и Microsoft Excel 2010 (Microsoft, США). Статистический анализ проводили с использованием параметрического t-критерия Стьюдента для нормальных распределений и непараметрического U-теста Манна – Уитни для ненормальных распределений выборок в группах.

2.4. Гистологическое исследование головного мозга

После завершения поведенческой части исследования животных декапитировали. Затем извлекали и фиксировали их головной мозг. Фиксацию мозга проводили на раннем (через 9 дней) и на позднем (через 25 дней) сроках после воздействия витального стресса.

Готовили серийные парафиновые срезы головного мозга. Окрашивали их по методу Ниссля (с применением красителя толуидинового синего), а также иммуноцитохимическим методом — проводили выявление на срезах маркёров NeuN и PCNA.

Маркёр NeuN использовался в настоящем исследовании для оценки функциональной целостности структур мозга и выявления возможных повреждений нервной ткани, поскольку он позволяет с высокой точностью определять характер структурных и цитохимических нарушений в ЦНС на различных экспериментальных моделях патологии (Коржевский Д. Э. и др., 2006b).

Маркёр PCNA использовался в настоящем исследовании для оценки пролиферативной активности в головном мозге, так как он достаточно информативен и прост в применении, не требует проведения дополнительных процедур, облегчающих выявление антигена, а также соблюдения специальных мер радиационной безопасности (Коржевский Д. Э. и др., 2012).

Окрашивание гистологического материала с использованием указанных маркёров происходит в короткие сроки, а получаемые препараты обладают высоким качеством.

Помимо основной иммуноцитохимической обработки срезов были поставлены общепринятые контрольные реакции (рис. 2.1, 2.2). Позитивным контролем для реакции на NeuN считали срезы мозга взрослых интактных животных. В качестве дополнительного позитивного контроля для реакции на PCNA были использованы срезы головного мозга крысы первого дня постнатального развития (высокая активность пролиферативных процессов). Для постановки реакции негативного контроля вместо первичных антител на срезы наносили только раствор для разведения антител (Dako, Дания).

Для определения анатомических областей мозга крысы пользовались специальным стереотаксическим атласом (Paxinos G., Watson C., 2007).

Взятие, фиксация и обезвоживание материала

Головной мозг извлекали из черепной коробки сразу после умерщвления животного и фиксировали погружением в цинк-этанол-формальдегид. Материал находился в фиксаторе в течение 1 сут. Для отмывки от формальдегида и продолжения процесса дегидратации материал помещали в две последовательные порции 96%-го этанола на 1 сут в каждую. Для завершения дегидратации материал помещали на 1 сут в абсолютный этанол.

Фиксатор готовили из 96%-го этанола, 35–40%-го формальдегида (Electrolux, Швеция) и цинка хлористого «Ч» (Вектон, Россия) в соотношении 100 мл : 10 мл : 1 г (Коржевский Д. Э. и др., 2006а).

Заливка в парафин

Вытеснение этанола из тканей осуществляли погружением материала в смесь петролейного эфира лёгкой фракции ($T_{\text{кип.}} = 40\text{--}70\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Вектон, Россия) и абсолютного этанола в соотношении 1 : 1 на 30 мин и последующим погружением в три порции чистого петролейного эфира на 30 мин в каждую. После нахождения в первой порции чистого петролейного эфира для облегчения иммерсии мозг поперечно разрезали по линии, соответствующей зрительному перекрёсту. Для перевода в парафиновую среду материал оставляли на ночь в смеси парафина и петролейного эфира в соотношении 1 : 1 в термостате при температуре 37 °С. Затем проводили материал через две последовательные порции чистого парафина в термостате при температуре 58 °С по 1 ч в каждой. После пропитывания парафином материал заливали в форму с использованием заливочной среды Histomix Extra (БиоВитрум, Россия) и помещали для ускорения застывания в холодильник при температуре +4 °С.

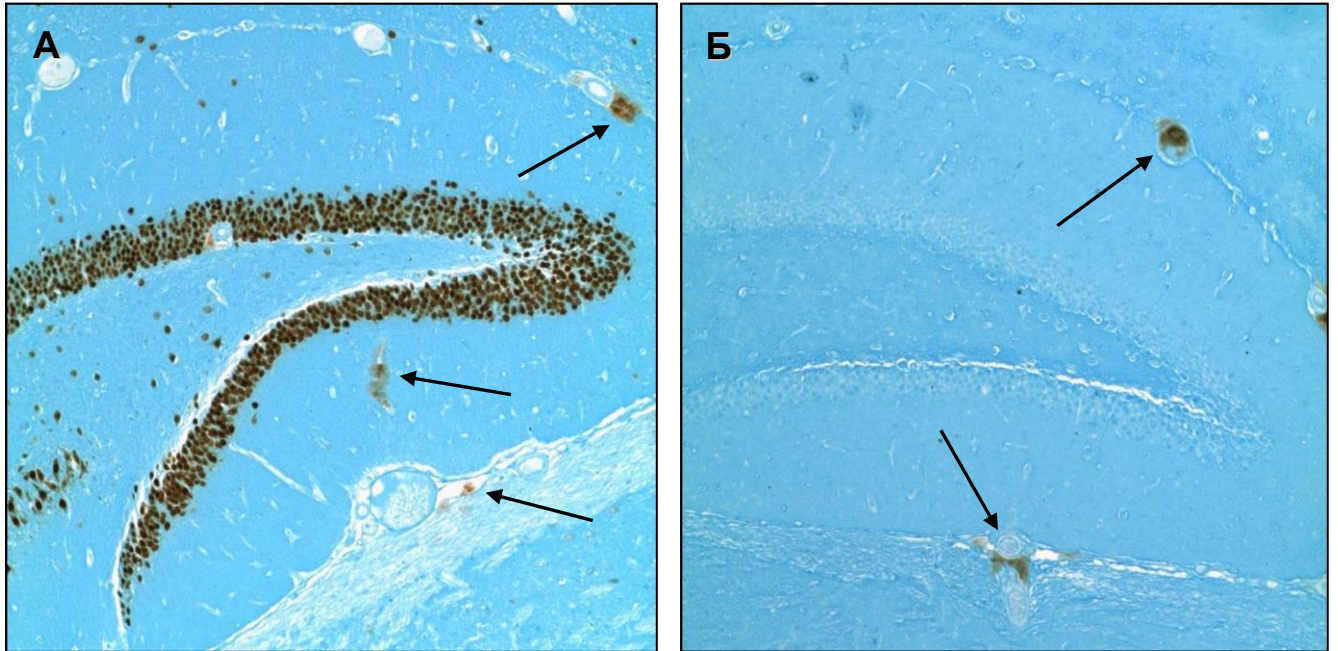


Рис. 2.1. Гиппокамп, зубчатая фасция. Контрольные реакции на NeuN.

Иммуноцитохимическая реакция на NeuN (А), докраска астровым синим (А, Б), $\times 100$.

А — позитивный контроль, интактное животное (в коричневый цвет окрашены ядра нейронов); Б — негативный контроль, нанесение раствора для разведения антител вместо первичных антител (ядра нейронов не окрашены).

Стрелками указаны места неспецифического связывания вторичных антител (периваскулярные области).

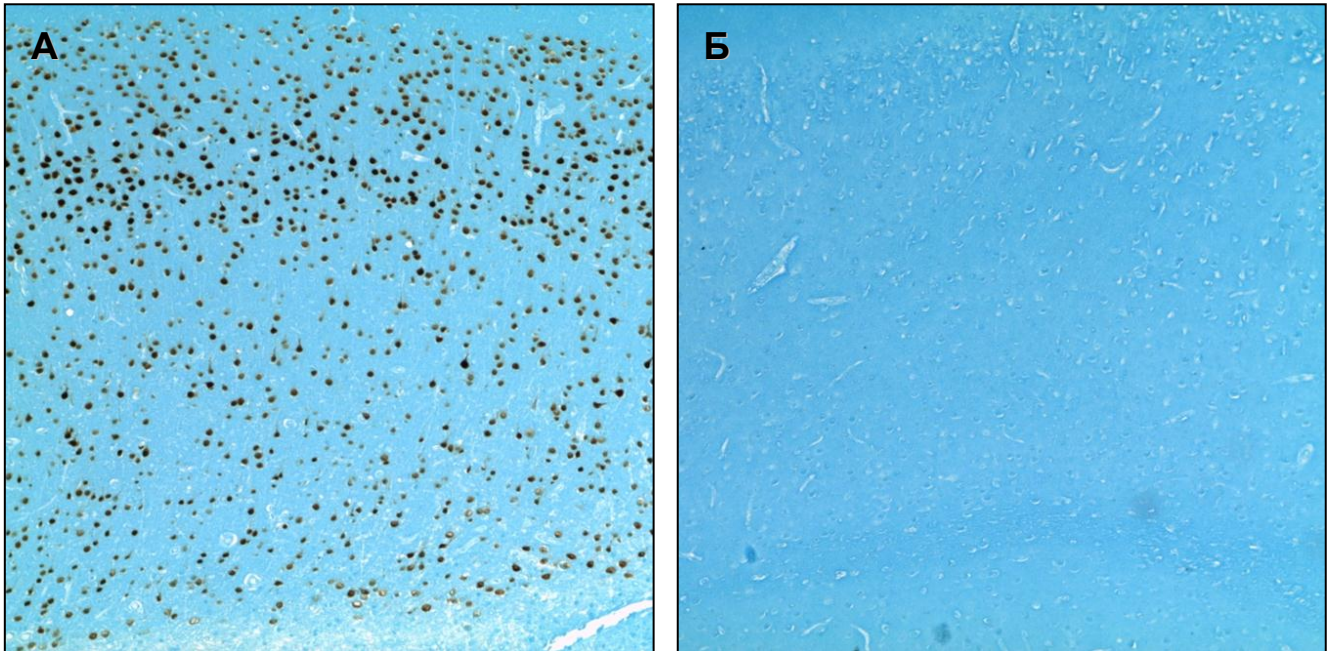


Рис. 2.2. Кора больших полушарий. Контрольные реакции на NeuN.

Иммуноцитохимическая реакция на NeuN (А), докраска астровым синим (А, Б),
× 100.

А — позитивный контроль, интактное животное (в коричневый цвет окрашены ядра нейронов); Б — негативный контроль, нанесение раствора для разведения антител вместо первичных антител (ядра нейронов не окрашены).

Приготовление срезов

На ротационном микротоме Spencer 820 (American Optical Corporation, США) из парафиновых блоков готовили серийные срезы толщиной 7 мкм, ориентированные фронтально, на участке мозга от 2 до 4,5 мм кзади от брегмы. Наклеивали их на предметные стёкла (Menzel-Gläser, Германия) с использованием дистиллированной воды и покрытия для предметных стёкол на основе бычьего сывороточного альбумина (патент № 2386137 RU) (Коржевский Д. Э., Кирик О. В., 2010). Высушивали препараты на предметном столике с подогревом. Папки с препаратами оставляли на ночь в термостате при температуре 37 °С.

Регидратация срезов перед окраской

Перед окраской срезы подвергали депарафинизации и регидратации в стандартной гистологической батарее спиртов нисходящей крепости: *o*-ксилол «Ч» (Вектон, Россия) → 96%-й этанол → 80%-й этанол. Завершали регидратацию срезов в дистиллированной воде.

Окраска препаратов по методу Ниссля

Для окраски препаратов по Ниссля использовали краситель толуидиновый синий (Toluidine Blue O zinc chloride double salt; Acros Organics, Бельгия) и дифференцировочный раствор, который готовили из 100 мл 96%-го этанола и 1 кап. ледяной уксусной кислоты «ЧДА» (Вектон, Россия).

Иммуноцитохимический метод

Иммуноцитохимические реакции с использованием антител к NeuN (моноклональные мышинные, клон А60) (Chemicon /Millipore/, США) и PCNA (моноклональные мышинные, клон PC10) (Dako, Дания) проводили следующим образом. После регидратации препараты помещали в 3%-й раствор перекиси водорода на 5–10 мин для блокировки эндогенной пероксидазы. Затем препараты помещали на 5 мин в фосфатно-солевой буфер (0,01 М; рН 7,4) (БиолоТ, Россия). Далее срезы инкубировали с первичными антителами во влажной камере в термостате

при температуре 40 °С в течение 40 мин. После инкубации с первичными антителами препараты промывали в течение 5 мин в фосфатно-солевом буфере. Затем проводили инкубацию с вторичными антителами системы EnVision+ (мышинные, HRP) (Dako, Дания) во влажной камере в термостате при температуре 27 °С в течение 35 мин. От вторичных антител препараты также отмывали в фосфатно-солевом буфере в течение 5 мин. Далее наносили раствор хромогена DAB+ (Dako, Дания) и проводили выявление антител под контролем микроскопа. По достижении оптимальной интенсивности окрашивания реакцию останавливали, смывая хромоген 3%-м раствором перекиси водорода. Часть срезов докрашивали астровым синим (Astrablau; Merck, Германия).

Дегидратация и заключение срезов под покровное стекло

После окраски срезы подвергали дегидратации в стандартной гистологической батарее спиртов восходящей крепости: 96%-й этанол → абсолютированный изопропанол (Вектон, Россия). Затем просветляли срезы в *о*-ксилоле и заключали их под покровное стекло с использованием среды для заключения препаратов Bio Mount (Bio-Optica, Италия).

Получение фотографий гистологических препаратов

Для получения цифровых изображений срезов головного мозга использовали световой микроскоп Leica DM750, цифровую фотокамеру Leica ICC50 (3 Мпикс) и компьютерную программу Leica LAS EZ 2.0 (производитель указанного аппаратного и программного обеспечения — Leica Microsystems, Германия). Снимки препаратов делали при увеличениях объектива × 4, × 10, × 20, × 40. Для получения панорамных фотографий отдельных структур или полных фронтальных срезов мозга производили реконструкцию единых изображений из нескольких снимков, сделанных при большом увеличении, в компьютерной программе GIMP 2.6 (The GIMP Development Team).

Оценка гистологических изображений

Обработку и оценку полученных цифровых изображений производили с помощью компьютерных программ GIMP 2.6 (The GIMP Development Team) и ImageJ 1.44 (НИН, США).

Наличие и степень структурных нарушений в мозге крыс, переживших воздействие острого витального стресса, характеризовали как описательно, так и с использованием балльной системы.

На препаратах, окрашенных по Ниссию, проводили оценку морфологических характеристик и состояния хроматофильной субстанции нейронов гиппокампа, супраоптического ядра (СОЯ) гипоталамуса и КБП. На фотографиях препаратов, полученных с использованием этого метода окрашивания, оценивали количество гиперхромных и сморщенных клеток в гиппокампе. Количество повреждённых клеток в поле СА3 гиппокампа (как области наиболее выраженных нарушений) подсчитывали на участке 500 мкм латерального изгиба структуры и оценивали полуколичественным способом (Эллиниди В. Н. и др., 2002). Для этого наносили на изображение гиппокампа масштабный отрезок, равный по количеству пикселей участку соответствующей длины. На выделенном участке точно отмечали гиперхромные и сморщенные нейроны, затем подсчитывали их количество. Степень повреждения гиппокампа, при которой среднее количество гиперхромных и сморщенных нейронов в пересчёте на 100 мкм поля СА3 составляло до 15 клеток, характеризовали как слабую и выставляли значение «+». При нахождении на данном промежутке от 16 до 25 таких клеток характеризовали степень повреждения как умеренную и присваивали значение «++». При регистрации на указанном промежутке гиппокампа от 26 повреждённых клеток и более характеризовали степень повреждения как выраженную и выставляли значение «+++». При ненахождении в гиппокампе гиперхромных и сморщенных нейронов констатировали отсутствие повреждения и выставляли значение «-».

Параллельно оценивали степень и характер повреждения структур головного мозга на препаратах, обработанных с использованием антител к NeuN. Производили учёт степени повреждения нейронов по утрате ими специфической

реакции на белок NeuN. При описании выявленных участков ослабления/исчезновения реакции на NeuN на препаратах учитывали микроанатомическую область, в которой локализовались данные нарушения, а также характер нарушений и экспериментальную группу животных.

На изображениях препаратов, обработанных с использованием антител к PCNA, оценивали интенсивность пролиферации в СВЗ и гиппокампе. Подсчитывали количество PCNA⁺-клеток на всю длину латеральной стенки бокового желудочка, отмечая их точечно. Интенсивность пролиферации в СВЗ при регистрации в этой области в среднем от 26 и более пролиферирующих клеток характеризовали как нормальную и выставляли значение «+++». При регистрации в СВЗ от 16 до 25 таких клеток характеризовали уровень пролиферации как умеренно сниженный и выставляли значение «++». В случае нахождения в указанной области до 15 клеток, иммунопозитивных по маркеру PCNA, характеризовали пролиферативную активность как ослабленную и присваивали значение «+». Случаев полного подавления пролиферации в СВЗ не отмечали. В гиппокампальной области ввиду малого числа пролиферирующих клеток оценку пролиферативной активности проводили описательно: характеризовали подавление нейрогенеза при ненахождении в гиппокампе PCNA⁺-клеток, а также, при его сохранении, указывали характер расположения пролиферирующих клеток в субгранулярном слое зубчатой фасции и других отделах гиппокампа — в виде кластеров или единично.

Для всех использованных методов выявления изменений в структурах головного мозга подсчёт клеток производили на нескольких срезах для одного животного — отдельно для левого и правого полушарий.

2.5. Фармакологическая коррекция состояния животных

Ежедневно с 14 до 15 ч в течение 23 сут эксперимента осуществляли внутрибрюшинное введение животным, подвергнутым острому витальному стрессу, раствора пирибедила, — агониста D₂, D₃ дофаминовых рецепторов, в двух дозировках: 0,72 мг/кг и 2,14 мг/кг. Расчёт дозировок производили в соответствии

с известной терапевтической дозой этого препарата для человека. Активным контролем к животным, получавшим после травмы пирибедил, являлись крысы, также пережившие острую психогенную травму, но получавшие в аналогичных объёмах и условиях физиологический раствор (ФР). Пассивным контролем ко всем группам крыс, которым производились инъекции, служили интактные крысы. На основании поведенческих методов, описанных в разделе 2.3, проводили анализ поведения животных.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с гипотезой о том, что экстремальное психогенное воздействие (переживание психотравмирующей ситуации) может приводить к развитию стойких нарушений в поведении, а также формированию функциональных и структурных изменений в мозге, вовлечённых в развитие и долговременное поддержание постстрессовых поведенческих отклонений, проведены эксперименты, в которых животные подвергались воздействию однократного острого витального стресса. Крысы переживали ситуацию угрозы собственной жизни, становясь свидетелями гибели сородича от действий питона.

При моделировании психогенной травмы, во время переживания ситуации гибели сородича от действий хищника у всех крыс регистрировали изменённое поведение. Большая часть животных демонстрировала такие паттерны как замирание, фризинг, «поза страха» с дугообразно выгнутым хвостом, прерывистый груминг с нарушенной последовательностью действий, группирование «в кучу», подползание под партнёра. Отдельные крысы, напротив, проявляли двигательное возбуждение, бесконтрольно перемещались по террариуму, подбегали к питону, обнюхивали его, пытались его кусать. Такое поведение перемежалось фризингом и изменённым грумингом. У крыс регистрировали интенсивные уринацию и дефекацию, что является значимым показателем развития у животных реакций страха.

В ходе моделирования психогенной травмы крысам предоставлялась возможность избежать нахождения в травматической ситуации и покинуть террариум. Однако подавляющее большинство животных не справлялось с решением этой задачи: крысы оставались сгруппированными в углу террариума при открытой его створке и приставленной к нему жилой клетке с опилками. Данное наблюдение может свидетельствовать о формировании у крыс уже во время

моделирования психогенного стресса когнитивных нарушений, обусловленных развитием состояния, описываемым у человека как ужас.

Исследовали структуру эмоционального поведения животных во время моделирования психотравматической ситуации и на различных сроках после воздействия. Использовали батарею поведенческих тестов для оценки изменений в поведении животных. Проводили фармакологическую коррекцию состояния животных, применяя метод нейрофармакологического анализа поведения.

После завершения исследования животных в поведенческих тестах проводили гистологическое исследование головного мозга для выявления в нём возможных морфофункциональных нарушений и оценки эффекта фармакологической коррекции на их развитие. Фиксацию мозга животных проводили на раннем (через 9 дней) и позднем (через 25 дней) сроках после перенесения ими стрессового воздействия.

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

3.1.1. Изменение поведения крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса

На раннем сроке (3–8 дней) после воздействия острого витального стресса исследовали поведение крыс в тестах «Открытое поле», «Крестообразный приподнятый лабиринт», «Интродер – резидент» и тесте Порсолта (принудительного плавания). Оценивали уровни общей активности животных, двигательной активности, исследовательской деятельности, тревожности, коммуникативности, агрессивности и «депрессивности». Наблюдение за животными на этом сроке показало наличие у экспериментальных крыс, в сравнении с контрольными, ряда поведенческих отклонений.

В тесте ОП (рис. 3.1, А, Б) на фоне снижения общего числа актов вероятность и длительность актов локомоции остались почти не изменёнными, тогда как представленность в поведении паттернов вертикальной активности уменьшилась, особенно, притом достоверно, по показателю вероятности ($p < 0,05$). Длительно-

сти актов движения на месте и груминга снизились, а вероятности их появления повысились, при этом вероятность актов груминга повысилась достоверно ($p < 0,05$). В тесте животные демонстрировали частые незавершённые и/или непоследовательные реакции, направленные на собственное тело и обследование территории вокруг себя. Уровень обследования «норок» снизился по обоим показателям, однако более выражено, и достоверно, — по длительности ($p < 0,01$). Обследование «норок» носило поверхностный характер. Отмечали достоверное увеличение числа (вероятности) ($p < 0,05$) и, в большей степени, длительности ($p < 0,01$) актов фризинга.

Таблица 1.

Оценка поведения крыс в тесте «Открытое поле» на 3 сутки после воздействия витального стресса.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)	
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 12$)	Психогенная травма ($n_{\text{жив.}} = 12$)
Локомоция	P	$0,26 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,025$
	t, с	$65,3 \pm 8,1$	$62,1 \pm 7,0$
Вертикальная активность	P	$0,04 \pm 0,011$	$0,02 \pm 0,01$ *
	t, с	$10,3 \pm 3,1$	$9,8 \pm 2,5$
Движение на месте	P	$0,14 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,04$
	t, с	$21,4 \pm 5,3$	$12,1 \pm 3,2$
Груминг	P	$0,05 \pm 0,015$	$0,09 \pm 0,012$ *
	t, с	$18,0 \pm 6,7$	$11,1 \pm 3,4$
Обследование «норок»	P	$0,03 \pm 0,012$	$0,02 \pm 0,01$
	t, с	$18,3 \pm 4,2$	$7,2 \pm 2,1$ **
Фризинг	P	$0,05 \pm 0,015$	$0,1 \pm 0,02$ *
	t, с	$2,0 \pm 1,9$	$13,9 \pm 2,2$ **
Акты	n_{Σ}	162 ± 19	136 ± 23

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: P — вероятность актов; t — длительность актов; n_{Σ} — суммарное количество поведенческих актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

Демонстрация животными незавершённых и/или непоследовательных поведенческих реакций наряду с тенденцией к изменению значений по показателям паттерна движения на месте и достоверным изменением вероятности паттернов груминга в тесте ОП свидетельствует о выраженном снижении комфортности в поведении животных. Достоверное увеличение представленности в поведении паттернов фризинга указывает на значимое повышение уровня тревожности данных животных. В соответствии со значениями, зарегистрированными по длительности обследования «норок», уровень исследовательской деятельности животных был существенно снижен.

В тесте КПЛ (рис. 3.1, В) экспериментальные животные проводили достоверно меньшее количество времени на открытом «рукаве» лабиринта ($p < 0,01$). Время нахождения крыс в закрытом «рукаве» достоверно увеличилось ($p < 0,01$). Также достоверно возросла длительность нахождения на центральной площадке лабиринта ($p < 0,05$).

Таблица 2.

Оценка поведения крыс в тесте «Крестообразный приподнятый лабиринт» на 4 сутки после воздействия витального стресса.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)	
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 12$)	Психогенная травма ($n_{\text{жив.}} = 12$)
ОР	t, с	106,4 ± 12,3	45,6 ± 8,4 **
Ц		15,3 ± 3,2	30,4 ± 5,6 *
ЗР		201,0 ± 18,2	241,6 ± 21,4 **

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: ОР — открытый «рукав»; Ц — центральная площадка; ЗР — закрытый «рукав»; t — длительность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

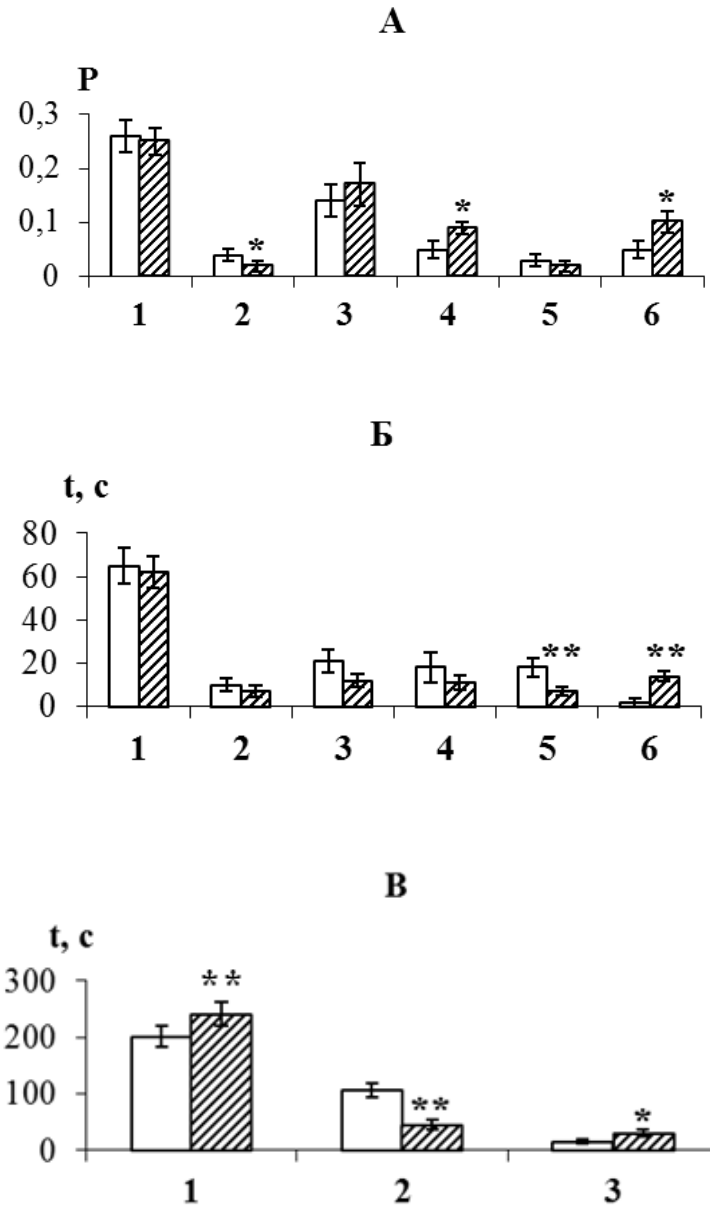


Рис. 3.1. Показатели модификации поведения крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса по тестам «Открытое поле» (А, Б) и «Крестообразный приподнятый лабиринт» (В).

По оси абсцисс (А, Б): 1 — локомоция; 2 — вертикальная активность; 3 — движение на месте; 4 — груминг; 5 — обследование «норок»; 6 — фризинг; (В): 1 — закрытый «рукав»; 2 — открытый «рукав»; 3 — центральная площадка.

По оси ординат: (А) — вероятность актов; (Б, В) — длительность актов.

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: светлые столбики — значение показателей поведения для контрольных животных; заштрихованные столбики — значение показателей поведения для экспериментальных животных; p — значимость показателей.

Достоверное повышение времени нахождения животных в закрытых «рукавах» лабиринта в тесте КПЛ также указывает на значительное возрастание уровня тревожности. Увеличение времени нахождения на центральной площадке свидетельствует о наличии у животных страха и затруднённости в выборе действий.

В тесте ИР (рис. 3.2, А) выявилась модификация структуры агрессивного поведения. Появились высоковероятные переходы локомоции в атаку и наоборот — атаки в локомоцию. Изменился характер атакующих действий: атака стала завершаться не переходом к другим действиям, а новой атакой, т. е. появился переход атаки в атаку. Достоверно возрос уровень вероятности паттернов агрессивного поведения ($p < 0,01$). Уровень коммуникативного поведения у животных, подвергнутых стрессу, был ниже, чем в контроле, однако достоверного снижения этого компонента поведения не отмечали.

Таблица 3.

Оценка поведения крыс в тесте «Интрuder – резидент» на 5–7 сутки после воздействия витального стресса.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)	
		Интakтный контроль ($n_{\text{жив.}} = 12$)	Психогенная травма ($n_{\text{жив.}} = 12$)
Ком	Р	$0,392 \pm 0,047$	$0,331 \pm 0,043$
Агр		$0,05 \pm 0,015$	$0,1 \pm 0,02$ **
Защ		$0,005 \pm 0,004$	$0,007 \pm 0,004$

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: Ком — коммуникативное поведение; Агр — агрессивное поведение; Защ — защитное поведение; Р — вероятность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

Изменение структуры агрессивного поведения в тесте ИР, а именно появление высоковероятного перехода паттернов атаки в атаку, вместо смены атакующего поведения на иной вид активности, свидетельствует о появлении у животных признаков патологической агрессии. Уменьшение представленности в поведении коммуникативных паттернов также указывает на наличие тенденции к ослаблению коммуникативности у переживших стресс крыс.

В тесте Порсолта (рис. 3.2, Б) достоверно увеличилась длительность состояния иммобильности ($p < 0,05$). Увеличение длительности активного плавания не достигало уровня достоверности, но имело место выраженное достоверное снижение длительности пассивного плавания ($p < 0,01$), которое в данных условиях отражает оптимальную стратегию поведения.

Таблица 4.

Оценка поведения крыс в тесте Порсолта (принудительного плавания) на 8 сутки после воздействия витального стресса.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)	
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 12$)	Психогенная травма ($n_{\text{жив.}} = 12$)
АПл	t, с	254,4 ± 48,2	311,8 ± 46,2
ППл		233,2 ± 31,1	98,5 ± 25,1 **
Имм		181,2 ± 12,5	228,4 ± 18,7 *

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: АПл — активное плавание; ППл — пассивное плавание; Имм — иммобильность; t — длительность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

Достоверное повышение уровня паттернов иммобильности у животных в тесте Порсолта, трактуемое как демонстрация «поведенческого отчаяния», или «отказ от борьбы», является признаком развития у них депрессивно-подобных отклонений в поведении.

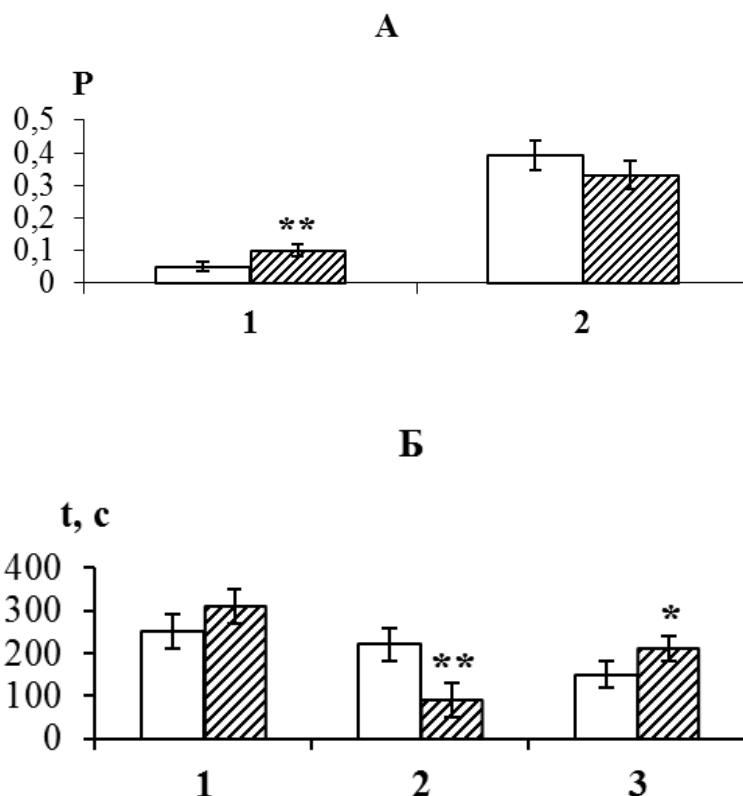


Рис. 3.2. Показатели модификации поведения крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса по тестам «Интрuder – резидент» (А) и Порсолта (принудительного плавания) (Б).

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.

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: светлые столбики — значение показателей поведения для контрольных животных; заштрихованные столбики — значение показателей поведения для экспериментальных животных; p — значимость показателей.

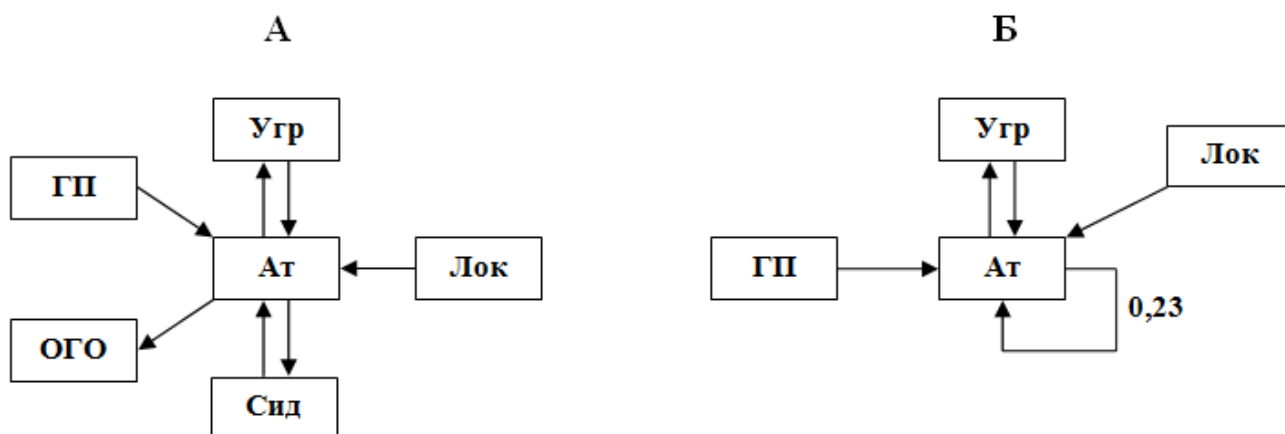


Рис. 3.3. Графологическая структура агрессивного поведения в тесте «Интродер – резидент» до (А) и на раннем сроке после (Б) воздействия витального стресса.

Обозначения: Угр — угроза; Ат — атака; ГП — груминг партнёра; ОГО — обнюхивание генитальной области; Лок — локомоция; Сид — сидит; «0,23» — вероятность перехода атаки в саму себя.

В результате поведенческого тестирования животных на раннем сроке после воздействия острого витального стресса были выявлены такие отклонения в поведении как тенденция к снижению уровня общей активности, достоверное снижение уровней исследовательской деятельности, повышение уровней тревожности, агрессивности, в т. ч. формирование патологической агрессии, а также появление в поведении животных признаков «депрессивности».

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

На препаратах головного мозга крыс, фиксированного на раннем сроке (через 9 дней) после воздействия витального стресса, регистрировали следующие морфофункциональные нарушения.

При окраске срезов по Ниссию обнаруживали многочисленные диффузно расположенные гиперхромные и сморщенные нейроны, наиболее часто встречающиеся в гиппокампе и супраоптическом ядре (СОЯ) гипоталамуса. Отдельные гиперхромные и сморщенные клетки локализовались в КБП. На препаратах мозга контрольных животных таких изменений не регистрировали.

Отмечали диффузное повреждение нейронов гиппокампа (рис. 3.4, Б). Наибольшая плотность расположения гиперхромных и сморщенных клеток была характерна для поля СА3. У многих нейронов наблюдали извитые дендритные отростки. Также в области СА2 – СА3 наблюдали разреженность слоя пирамидных клеток, создававшуюся за счёт точечных «выпадений», — отсутствия одного-двух или более нейронов.

Степень повреждения гиппокампа по использовавшейся в данном исследовании балльной системе характеризовали как выраженную. У многих животных все клетки поля СА3, исключая две-три, характеризовали как гиперхромные или сморщенные. Сморщенные клетки, в пересчёте на 100 мкм поля СА3, регистрировались в количестве 5–6.

Большая часть клеток СОЯ, как и нейроны гиппокампа, была гиперхромными или сморщенными (рис. 3.6, Б), то есть подвергшимися повреждению.

В КБП регистрировали повреждённые нейроны (рис. 3.5, Б), локализовавшиеся, как правило, в сенсомоторной и теменной ассоциативной областях. Для препаратов мозга травмированных животных было характерно наличие гиперхромных и сморщенных клеток, которые располагались единично или группами до десяти, тогда как на контрольных препаратах повреждённых клеток не наблюдали или отмечали у отдельных животных единичные гиперхромные пирамидные нейроны.

При проведении иммуноцитохимической реакции на маркёр NeuN на препаратах мозга перенёсших витальный стресс животных, в отличие от контрольных, выявляли зональное ослабление реакции на данный антиген в различных областях гиппокампа и КБП.

В гиппокампе наиболее выраженное ослабление реакции на NeuN отмечали в поле СА2 (рис. 3.7, Б). На препаратах регистрировали локальное снижение интенсивности или полное «выключение» иммуноцитохимической реакции (NeuN⁺) в единичных клетках или их группах — при видимом наличии светлой цитоплазмы. Также регистрировали точечные «выпадения», аналогичные наблюдавшимся при окраске по Нисслю, — при отсутствии видимых контуров клеток.

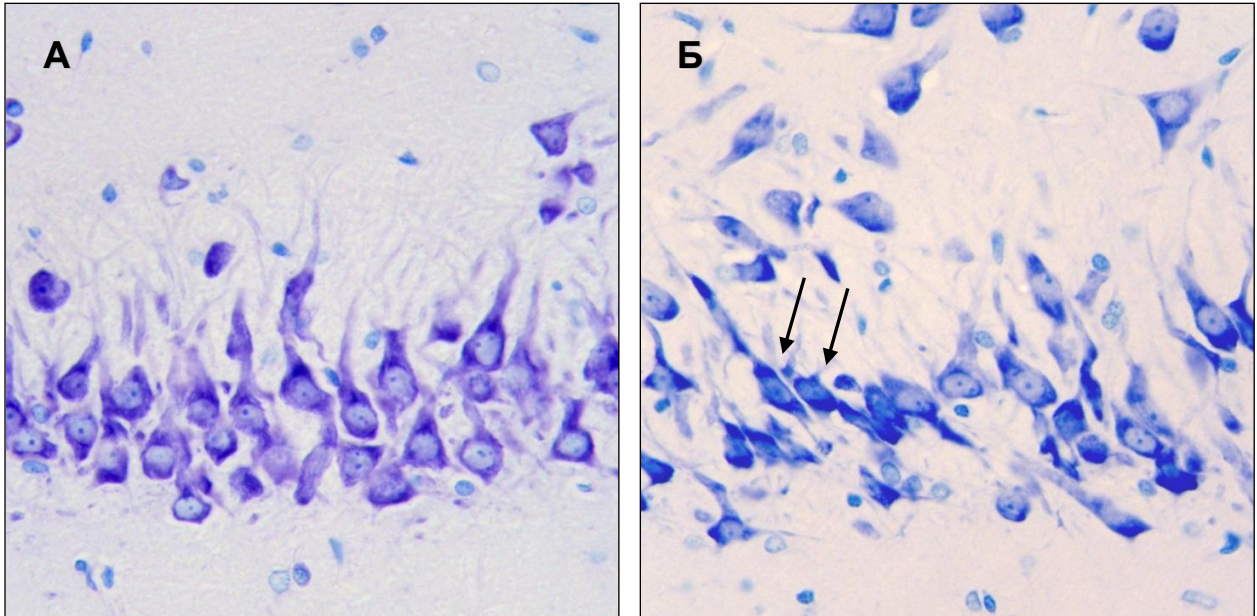


Рис. 3.4. Повреждение нейронов гиппокампа крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса.

Гиппокамп, поле СА3.

Окраска по Ниссля, $\times 400$.

А — интактное животное; Б — через 9 дней после витального стресса.

Стрелками указаны сморщенные клетки.

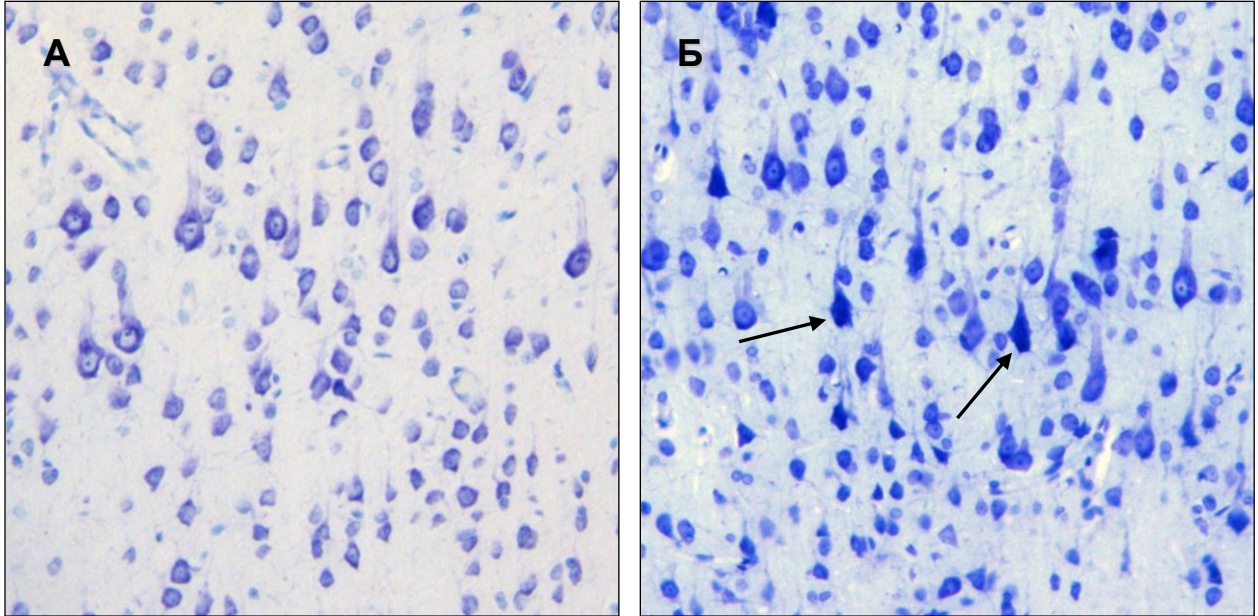


Рис. 3.5. Повреждение нейронов коры больших полушарий крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса.

Кора больших полушарий, слой пирамидных нейронов.

Окраска по Нисслю, $\times 200$.

А — интактное животное; Б — через 9 дней после витального стресса.

Стрелками указаны сморщенные клетки.

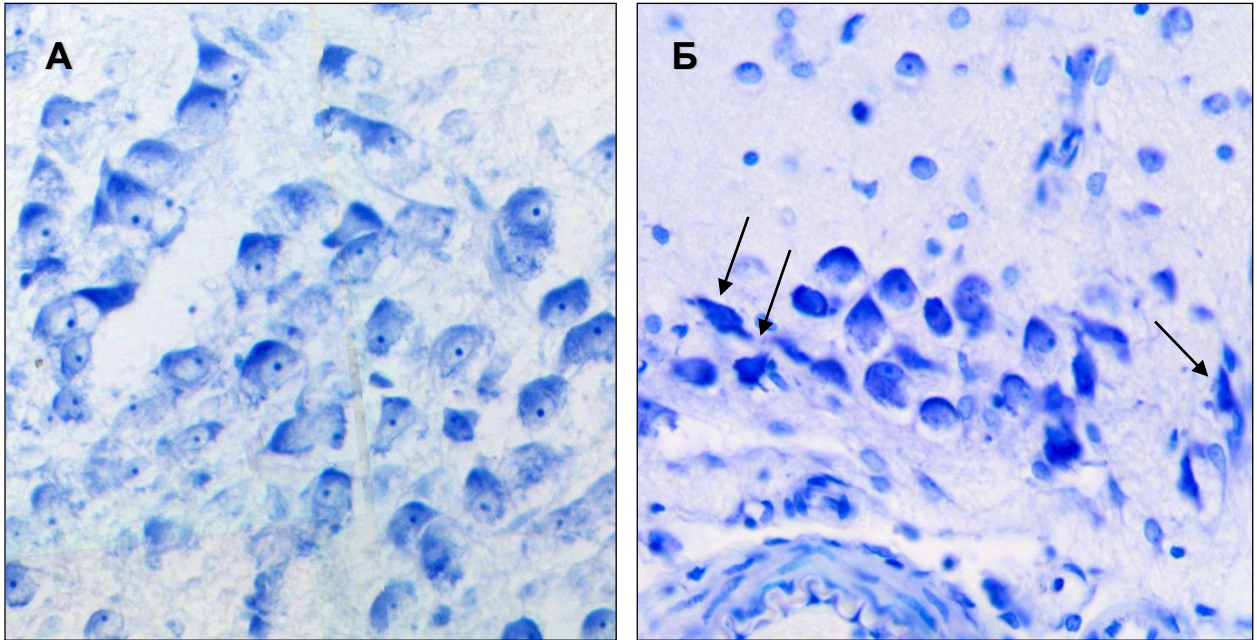


Рис. 3.6. Повреждение нейронов гипоталамуса крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса.

Гипоталамус, супраоптическое ядро.

Окраска по Нисслю, $\times 400$.

А — интактное животное; Б — через 9 дней после витального стресса.

Стрелками указаны гиперхромные и сморщенные клетки.

В КБП, наряду с диффузно-градуальным снижением интенсивности реакции на NeuN, отмечали локальное снижение или отсутствие иммуноцитохимической реакции (NeuN⁻) в клетках, по морфологическим признакам относимых к нервным, на фоне более интенсивно окрашенных нейронов. Такие нарушения регистрировали в области ретроспленальной коры и, менее выражено, — латеральнее, в области сенсомоторной коры.

Ослабление иммуноцитохимической реакции на NeuN во всех наблюдавшихся областях носило асимметричный характер. Бóльшая выраженность данного повреждения была характерна для левого полушария мозга.

При проведении реакции на PCNA оценивали интенсивность пролиферации в гиппокампе и СВЗ. Отмечали ослабление, в сравнении с контролем, пролиферативной активности в СВЗ, а также, в отдельных случаях, подавление пролиферации в гиппокампе.

В гиппокампе отдельных животных наблюдали полное подавление пролиферативной активности (рис. 3.8, Б) — PCNA⁺(пролиферирующие)-клетки отсутствовали на всей площади гиппокампа на глубине нескольких срезов.

Интенсивность пролиферации в СВЗ также была снижена (рис. 3.9, Б) — PCNA⁺-клетки встречались на срезах с меньшей, чем в норме, частотой. Уровень пролиферативной активности в СВЗ оценивали как умеренно сниженный.

При регистрации пролиферирующих клеток отмечали их расположение единично, а не кластерами, как это можно наблюдать в норме.

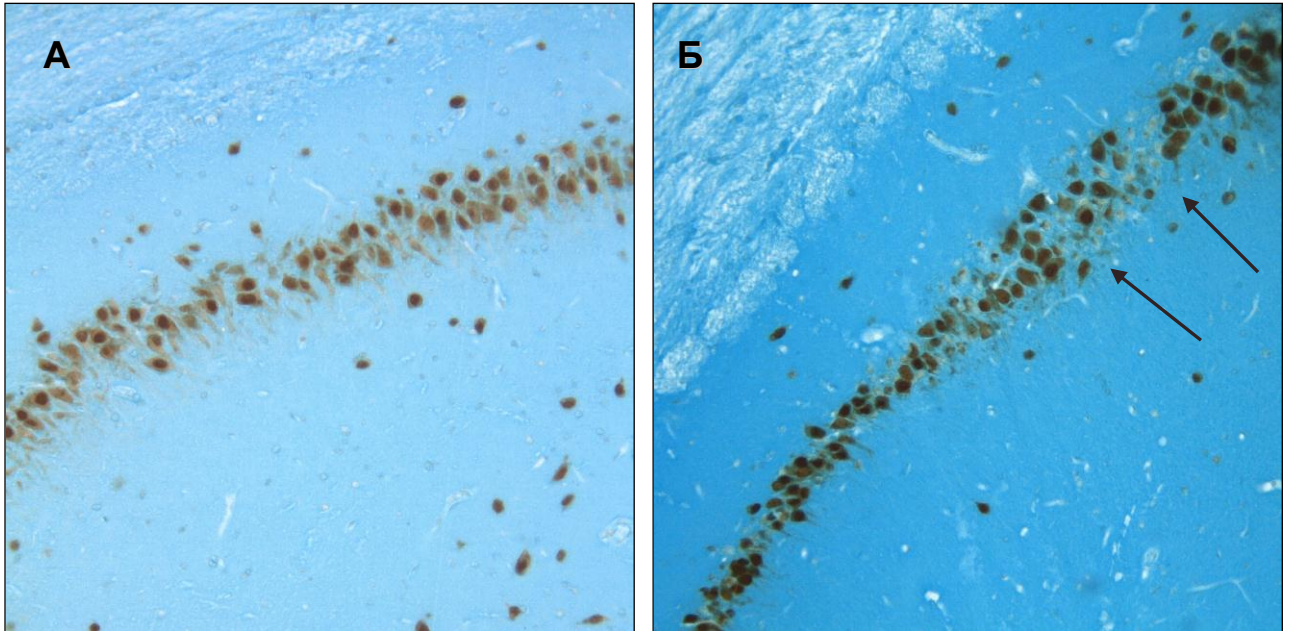


Рис. 3.7. Ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на антитела к NeuN в гиппокампе крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса.

Гиппокамп, поле СА2.

Иммуноцитохимическая реакция на NeuN, докраска астровым синим, $\times 200$.

А — интактное животное; Б — через 9 дней после витального стресса.

Стрелками указаны области ослабления и исчезновения реакции на белок NeuN.

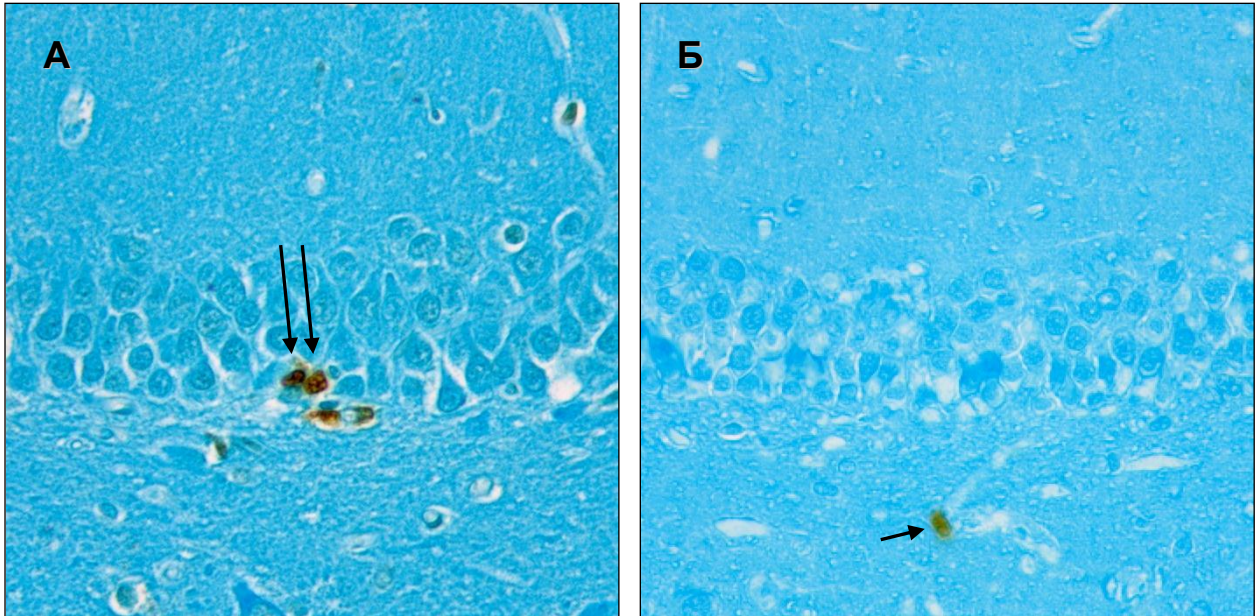


Рис. 3.8. Подавление нейрогенеза в гиппокампе крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса.

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.

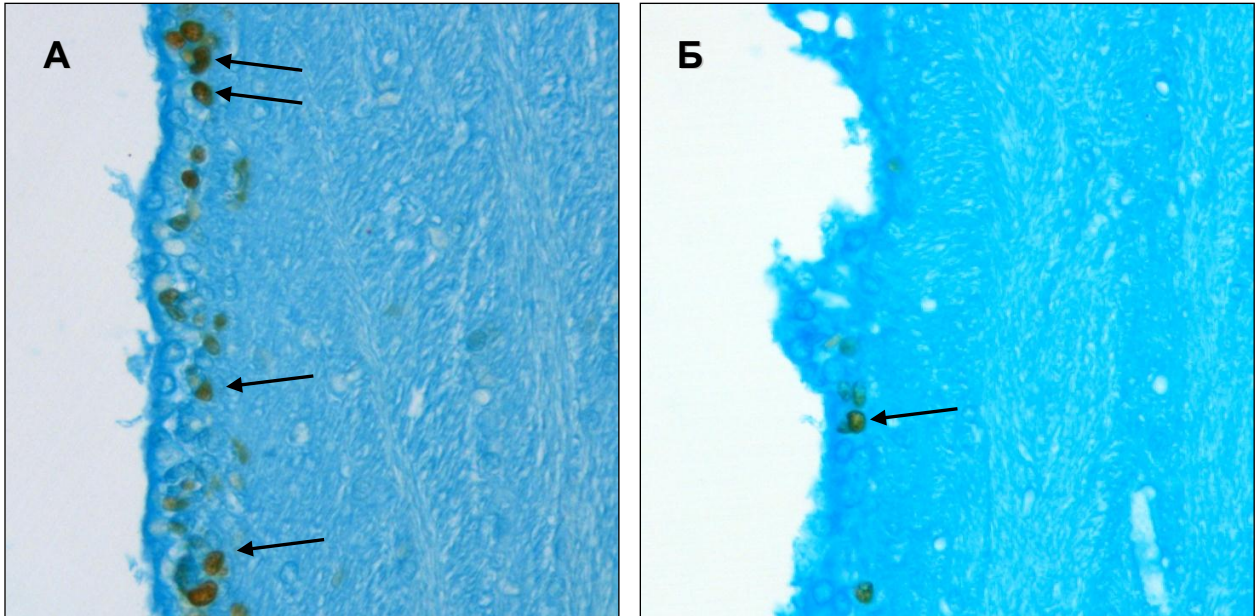


Рис. 3.9. Снижение интенсивности нейрогенеза в стенках боковых желудочков головного мозга крыс на раннем сроке после воздействия витального стресса.

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.

В результате гистологического исследования головного мозга животных на раннем сроке после воздействия витального стресса были выявлены такие морфофункциональные изменения, как гиперхромия/сморщивание нейронов гиппокампа, СОЯ, КБП, ослабление реакции на NeuN в гиппокампе, КБП, снижение интенсивности (подавление) пролиферации в СВЗ и субгранулярном слое зубчатой фации гиппокампа.

Таким образом, на раннем сроке после воздействия витального стресса у крыс регистрировали проявления общего постстрессового дискомфорта и страха, снижение уровня исследовательской деятельности, возрастание уровня тревожности и появление депрессивноподобных отклонений поведения в тесте Порсолта. Вместе с тем, психотравмирующее воздействие, которому были подвергнуты экспериментальные животные, приводило к увеличению уровня агрессивности и у ряда животных выражалось в продолжении атакующих действий при полной позе подчинения противника, что не характерно для обычного поведения крыс. Указанный комплекс нарушений трактуется нами как состояние общей депрессии поведения с характерными для ПТСР отклонениями в сфере агрессивности, и свидетельствует о развитии у животных данного расстройства.

Отклонения, наблюдавшиеся в поведении крыс, перенёвших воздействие витального стресса, сопровождалось рядом морфофункциональных нарушений в головном мозге, зарегистрированных у тех же животных. Среди таких нарушений отмечали повреждение нейронов гиппокампа, КБП и СОЯ, характеризовавшееся гиперхромией и сморщиванием. Также регистрировали ослабление иммуноцитохимической реакции на NeuN в гиппокампе и КБП. Кроме этого, на препаратах мозга травмированных животных отмечали снижение интенсивности, а в некоторых случаях подавление пролиферации/нейрогенеза.

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

3.2.1. Изменение поведения крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса

На позднем сроке (19–24 дня) после воздействия острого витального стресса исследовали поведение крыс в тех же тестах, которые использовались для регистрации поведенческих изменений на раннем сроке. Аналогичным образом оценивали уровни общей активности, двигательной активности, исследовательской деятельности, тревожности, коммуникативности, агрессивности и «депрессивности». Наблюдение за животными на этом сроке также показало наличие ряда поведенческих отклонений.

По данным теста ОП (рис. 3.10, А, Б), значение по показателю вероятности обследования «норок» у экспериментальных животных, в сравнении с контролем, было достоверно ниже ($p < 0,05$), а также возрос уровень представленности в поведении паттернов фризинга (достоверно — по показателю длительности: $p < 0,05$; по вероятности этого паттерна значимых отличий не отмечали). В ходе тестирования регистрировали проявление животными менее частого, но более длительного груминга, однако достоверных различий по соответствующим показателям получено не было. Вместе с тем, крысы, как и на раннем сроке наблюдения, демонстрировали груминг с нарушенной последовательностью фаз.

Таблица 5.

Оценка поведения крыс в тесте «Открытое поле» на 19 сутки после воздействия витального стресса.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)	
		Интактный контр. ($n_{\text{жив.}} = 12$)	Психогенная травма ($n_{\text{жив.}} = 12$)
Локомоция	P	0,222 ± 0,059	0,208 ± 0,027
	t, с	46,8 ± 11,1	49,8 ± 9,7
Вертикальная активность	P	0,031 ± 0,03	0,056 ± 0,016
	t, с	11,0 ± 11,0	11,0 ± 3,5
Движение на месте	P	0,306 ± 0,06	0,331 ± 0,029
	t, с	54,0 ± 18,2	44,2 ± 10,1
Груминг	P	0,082 ± 0,031	0,058 ± 0,031
	t, с	24,9 ± 12,2	26,8 ± 10,0
Обследование «норок»	P	0,102 ± 0,046	0,049 ± 0,016 *
	t, с	14,6 ± 8,3	6,9 ± 3,0 *
Фризинг	P	0,033 ± 0,028	0,06 ± 0,06
	t, с	2,6 ± 2,3	7,3 ± 3,6 *

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: **P** — вероятность актов; **t** — длительность актов; **M** — среднее значение; **m** — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; **p** — значимость показателей.

Сниженная вероятность паттерна обследования «норок» в поведении животных в тесте ОП на позднем сроке после витального стресса свидетельствует о стойком нарушении у переживших стресс крыс исследовательского компонента поведения. Бóльшая представленность в поведении травмированных крыс, в сравнении с контролем, актов фризинга (по показателю длительности), а также нарушение структуры актов груминга являются признаками долговременного поддержания у этих животных высокотревожного состояния.

В тесте КПЛ (рис. 3.10, В) отмечали меньшую, по отношению к интактным крысам, длительность нахождения животных на открытом «рукаве» лабиринта, однако в связи с большой вариабельностью поведения это изменение являлось недостоверным.

Таблица 6.

Оценка поведения крыс в тесте «Крестообразный приподнятый лабиринт» на 20 сутки после воздействия витального стресса.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)	
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 12$)	Психогенная травма ($n_{\text{жив.}} = 12$)
ОР	t, с	40,7 ± 30,1	17,7 ± 12,9
Ц		36,9 ± 27,1	18,8 ± 8,6
ЗР		224,5 ± 52,8	254,1 ± 34,5

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: ОР — открытый «рукав»; Ц — центральная площадка; ЗР — закрытый «рукав»; t — длительность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

Отклонение поведения в тесте КПЛ в сторону уменьшения длительности нахождения на открытом «рукаве» лабиринта, наряду с результатами теста ОП, указывает на сохранение у крыс, переживших психогенную травму, повышенного уровня тревожности.

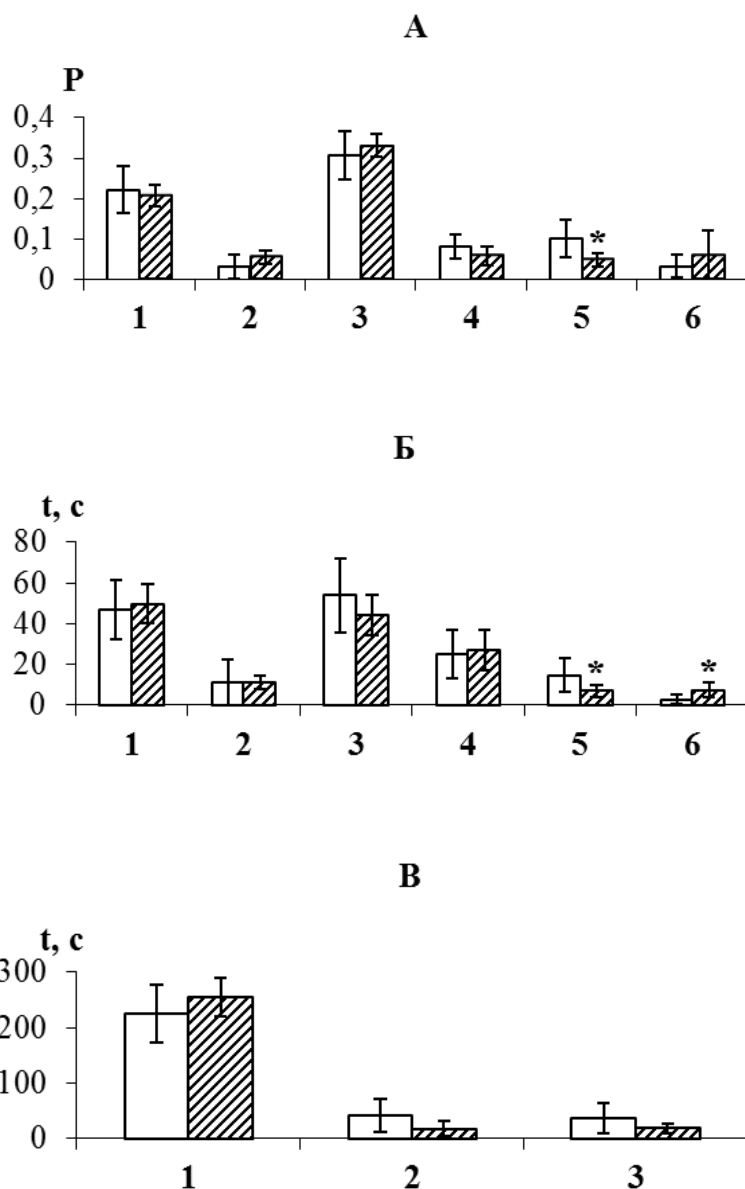


Рис. 3.10. Показатели модификации поведения крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса по тестам «Открытое поле» (А, Б) и «Крестообразный приподнятый лабиринт» (В).

По оси абсцисс (А, Б): 1 — локомоция; 2 — вертикальная активность; 3 — движение на месте; 4 — груминг; 5 — обследование «норок»; 6 — фризинг; (В): 1 — закрытый «рукав»; 2 — открытый «рукав»; 3 — центральная площадка.

По оси ординат: (А) — вероятность актов; (Б, В) — длительность актов.

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: светлые столбики — значение показателей поведения для контрольных животных; заштрихованные столбики — значение показателей поведения для экспериментальных животных; p — значимость показателей.

В тесте ИР (рис. 3.11, А, Б) у экспериментальных животных регистрировали повышенную представленность в поведении паттернов агрессивного поведения ($p < 0,05$) и сниженный уровень коммуникативных паттернов ($p < 0,05$).

Таблица 7.

Оценка поведения крыс в тесте «Интрuder – резидент» на 21–23 сутки после воздействия витального стресса.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)	
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 12$)	Психогенная травма ($n_{\text{жив.}} = 12$)
Ком	Р	0,438 ± 0,034	0,371 ± 0,05 *
Агр		0,008 ± 0,007	0,05 ± 0,027 *
Защ		0	0,004 ± 0,006

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: Ком — коммуникативное поведение; Агр — агрессивное поведение; Защ — защитное поведение; Р — вероятность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

Высокая представленность в тесте ИР паттернов агрессивного поведения в позднем периоде после воздействия витального стресса свидетельствует о наличии у животных нарушения, аналогичного тому, которое наблюдалось на раннем сроке после витального стресса, и характеризующегося стабильным повышением общего уровня агрессивности. Признаки патологической агрессии у животных на позднем сроке после переживания психогенной травмы не регистрировались либо регистрировались в меньшей степени, не указывающей на достоверность данных изменений в поведении травмированных крыс. Снижение вероятности, в сравнении с контрольными животными, появления коммуникативных паттернов в поведении стрессированных крыс указывает на ослабление у этих животных реакций нормальной коммуникативности.

В тесте Порсолта (рис. 3.11, В) регистрировали достоверно большую длительность состояния иммобильности ($p < 0,05$), а также более низкий по длительности уровень пассивного плавания ($p < 0,01$).

Таблица 8.

Оценка поведения крыс в тесте Порсолта (принудительного плавания) на 24 сутки после воздействия витального стресса.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)	
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 12$)	Психогенная травма ($n_{\text{жив.}} = 12$)
АПл	t, с	226,5 ± 79,1	247,7 ± 46,3
ППл		298 ± 55,7	231,3 ± 50,5 **
Имм		76,3 ± 41,9	121,7 ± 29,9 *

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: АПл — активное плавание; ППл — пассивное плавание; Имм — иммобильность; t — длительность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

Достоверное повышение длительности состояния иммобильности в тесте Порсолта, как и в наблюдениях, полученных на раннем сроке после витального стресса, свидетельствует о развитии у животных «поведенческого отчаяния», или «депрессивности». Кроме того, понижение представленности в поведении паттернов пассивного плавания показывает длительно сохраняющуюся после переживания стресса дезорганизацию структуры поведения.

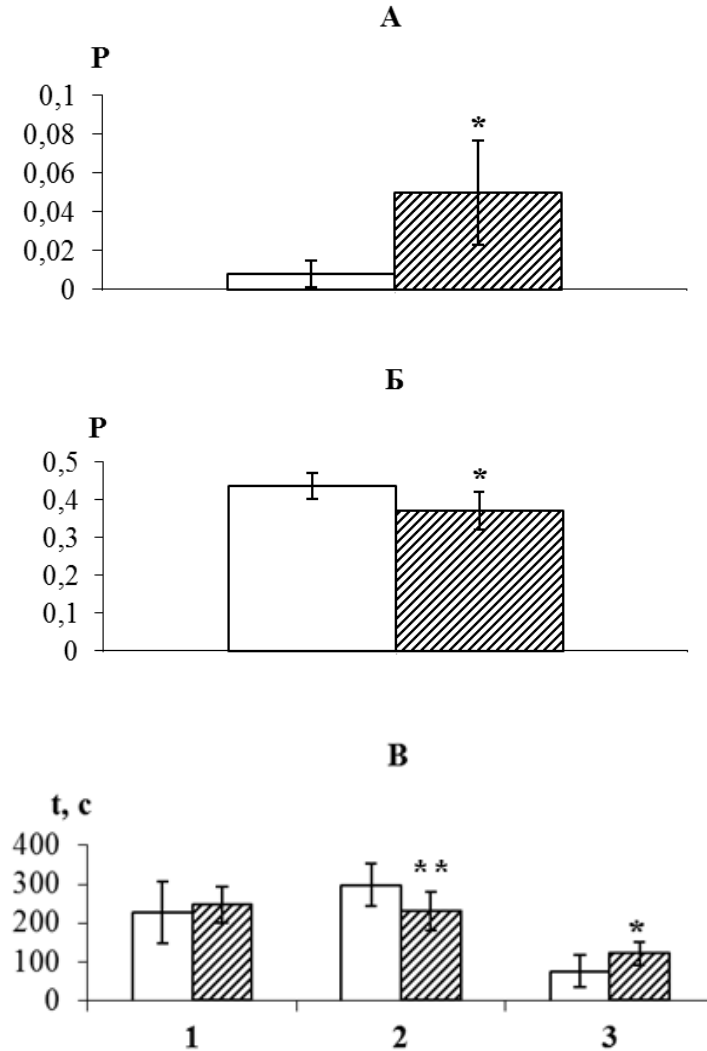


Рис. 3.11. Показатели модификации поведения крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса по тестам «Интродер – резидент» (А, Б) и Порсолта (принудительного плавания) (В).

По оси абсцисс (А) — агрессивное поведение; (Б) — коммуникативное поведение; (В): 1 — активное плавание; 2 — пассивное плавание; 3 — иммобильность.

По оси ординат: (А, Б) — вероятность актов; (В) — длительность актов.

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Обозначения: светлые столбики — значение показателей поведения для контрольных животных; заштрихованные столбики — значение показателей поведения для экспериментальных животных; p — значимость показателей.

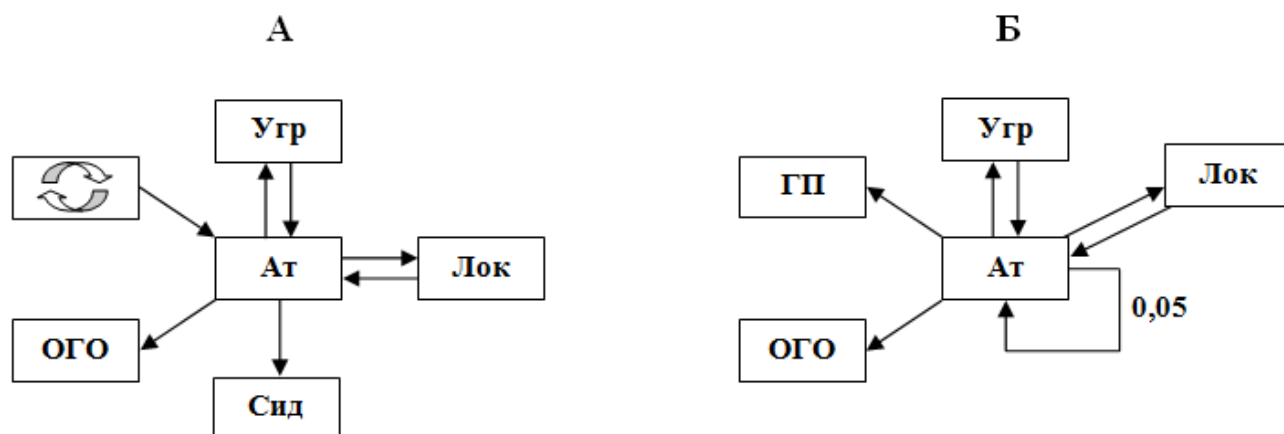



Рис. 3.12. Графологическая структура агрессивного поведения в тесте «Интродер – резидент» до (А) и на позднем сроке после (Б) воздействия витального стресса.

Обозначения: Угр — угроза; Аг — атака; ГП — груминг партнёра; ОГО — обнюхивание генитальной области; Лок — локомоция; Сид — сидит;  — подползание и наползание; «0,05» — вероятность перехода атаки в саму себя.

Оценка поведения животных на позднем сроке после витального стресса, аналогично данным, полученным на раннем сроке наблюдения, показала снижение уровня коммуникативности, повышение уровней тревожности и агрессивности, а также появление в поведении признаков «депрессивности». Регистрация указанных поведенческих отклонений на позднем сроке после травмы свидетельствует о развитии у животных устойчивого постстрессового состояния. Отличия характеристик поведенческих изменений, зарегистрированных на позднем сроке наблюдения, от данных, полученных на раннем сроке, состояли в существенно более низком уровне актов патологической агрессии.

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

На препаратах головного мозга, фиксированного на позднем сроке (через 25 дней) после воздействия витального стресса, регистрировали следующие морфофункциональные изменения.

При окраске по Нисслию в гиппокампе травмированных животных, как и на раннем сроке после стресса, регистрировали большое количество повреждённых клеток (рис. 3.13, Б). Наблюдала значительное распространение в гиппокампе сморщенных нейронов с извитыми отростками. Наибольшее скопление гиперхромных и сморщенных клеток было характерно для поля СА3. Доля сморщенных нейронов среди всех повреждённых клеток была существенно выше — регистрировали, в пересчёте на 100 мкм поля СА3, более 20 таких клеток. Также регистрировали повреждённые нейроны в поле СА1. При подсчёте количества повреждённых нейронов в гиппокампе отмечали асимметричность повреждения — бóльшая плотность расположения повреждённых клеток была характерна для левого полушария мозга. Наблюдала некоторую дезорганизацию слоя пирамидных клеток, однако нарушения цитоархитектоники гиппокампа не отмечали.

Степень нарушений, выявленную при окраске по Нисслию, характеризовали как выраженную.

В КБП также отмечали наличие гиперхромных и сморщенных клеток, располагавшихся единично или группами до десяти. Локализовались такие клетки, как и на раннем сроке наблюдения, наиболее часто в сенсомоторной и теменной ассоциативной областях КБП. На препаратах мозга интактных животных повреждённых клеток в КБП не регистрировали или отмечали единичные гиперхромные нейроны.

Кроме того, практически все нейросекреторные клетки СОЯ были повреждёнными (гиперхромными или сморщенными).

При проведении иммуноцитохимической реакции на NeuN у животных, подвергнутых воздействию витального стресса, в отличие от контрольных животных, выявляли области снижения интенсивности реакции на данный белок в гиппокампе и КБП.

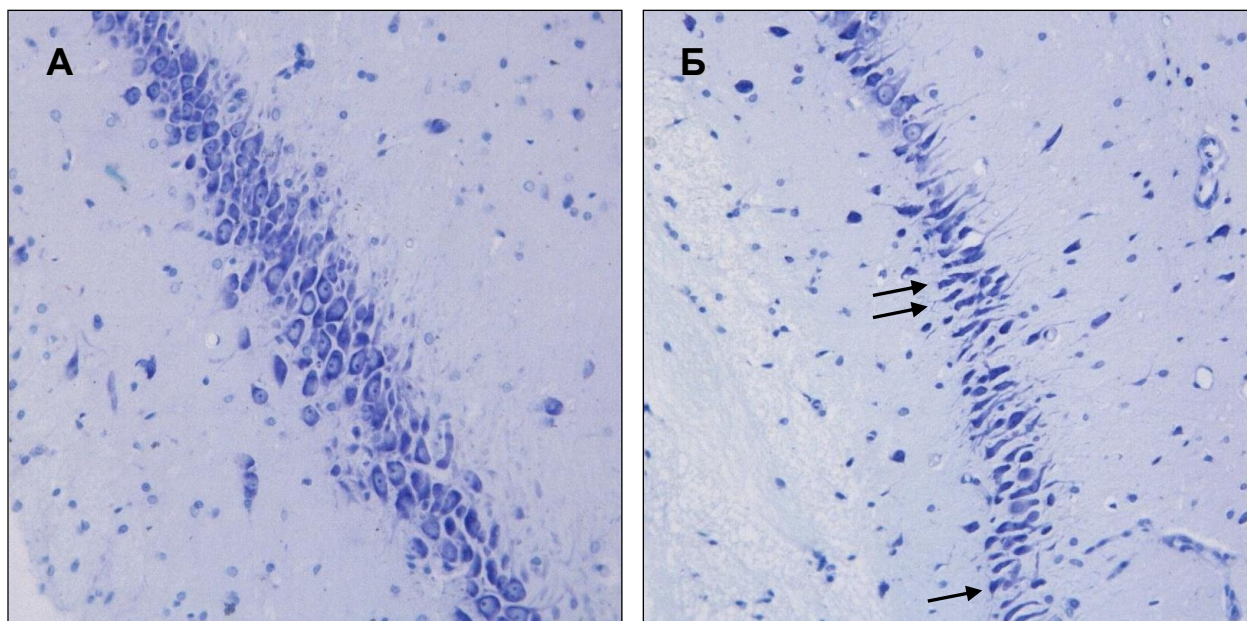


Рис. 3.13. Повреждение нейронов гиппокампа крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса.

Гиппокамп, поля CA1 – CA2.

Окраска по Нислю, $\times 200$.

A — интактное животное; B — через 25 дней после витального стресса.

Стрелками указаны гиперхромные и сморщенные клетки.

В гиппокампе выявляли анатомически чёткую зону «выключения» реакции на белок NeuN, ограниченную следующими областями: поле CA1, субикулум, ленточная извилина (рис. 3.14, Б; 3.15, Б; 3.16). На данном участке гиппокампа, аналогично наблюдениям, выполненным при фиксации мозга на раннем сроке после травмы, располагались «пустые» (NeuN⁻) контуры клеток — отмечали наличие светлой цитоплазмы при отсутствии иммуноцитохимической реакции на NeuN. Контуры NeuN⁻-клеток, располагавшихся в пирамидном слое поля CA1, имели как нормальную, так и характерную для сморщенных нейронов форму. Принципиальное отличие от изменений, зарегистрированных при проведении реакции на NeuN на раннем сроке после витального стресса, состояло в том, что на позднем сроке в указанных областях иммунопозитивных по NeuN клеток (NeuN⁺) не регистрировали вообще или регистрировали в количестве до нескольких на срез.

Также отмечали снижение интенсивности реакции на NeuN в КБП. Области коры, в которых отсутствовала или была существенно ослаблена реакция на этот антиген, включали в себя главным образом ретроспленальную кору, и в меньшей степени — сенсомоторную кору. Для этих областей, наряду с диффузным ослаблением реакции, были характерны единичные либо групповые «выключения» экспрессии маркера в клетках. Наблюдали отчётливое ослабление иммуноцитохимической реакции на NeuN в тех участках указанных областей КБП, на которые проецировались соответствующие им пучки мозолистого тела. Наибольшая интенсивность этого нарушения была характерна для более глубоких зон коры — находившихся в большей близости к подходящим от мозолистого тела пучкам волокон.

Описанное цитохимическое нарушение во всех наблюдаемых областях, как и на раннем сроке, носило асимметричный характер; у большинства животных преобладало повреждение структур левого полушария.

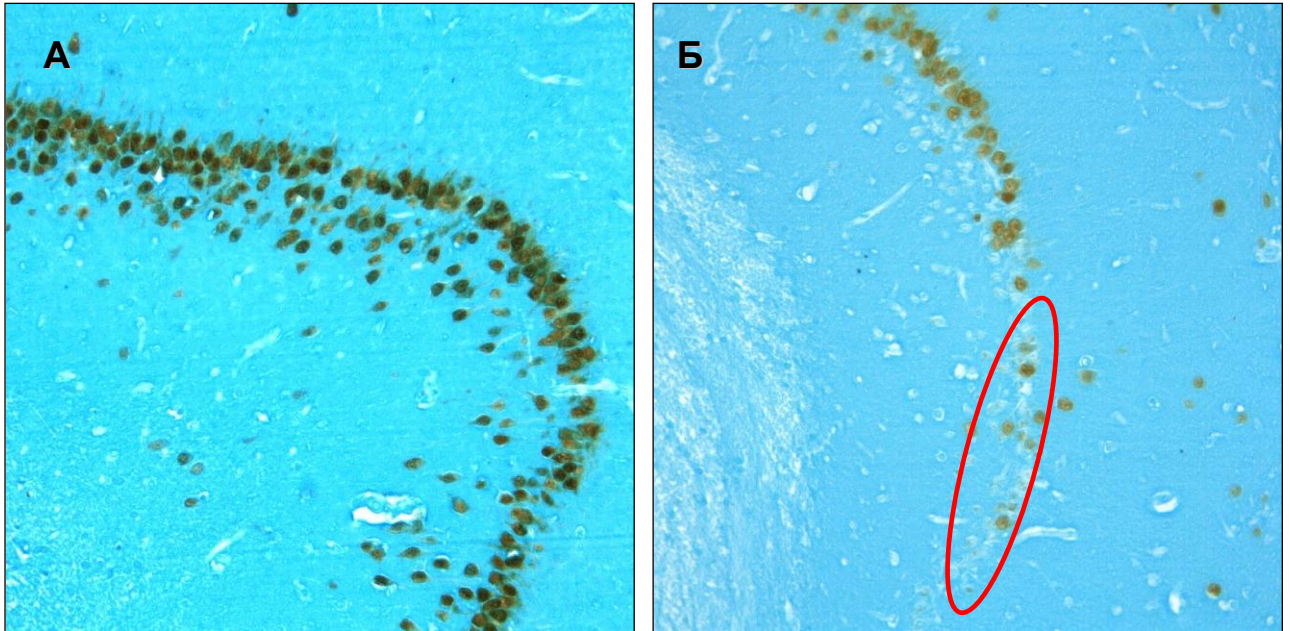


Рис. 3.14. Ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на NeuN в гиппокампе крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса.

Гиппокамп, область CA1 – ленточная извилина.

Иммуноцитохимическая реакция на NeuN, докраска астровым синим, $\times 200$.

A — интактное животное; B — через 25 дней после психической травмы.

Красным указана область ослабления и исчезновения реакции на белок NeuN.

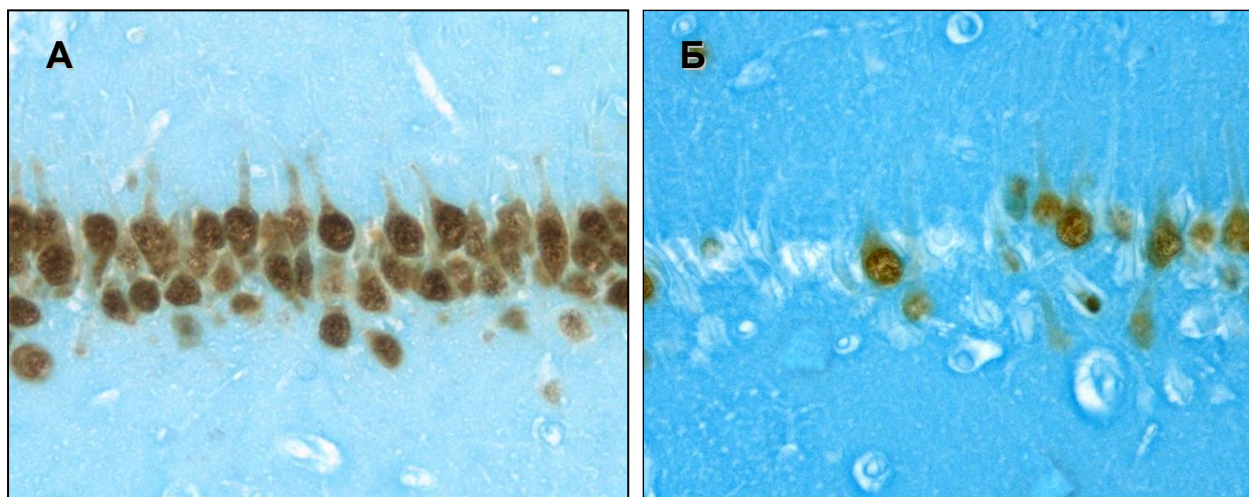


Рис. 3.15. Ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на NeuN в гиппокампе крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса.

Гиппокамп, поле СА3.

Иммуноцитохимическая реакция на NeuN, докраска астровым синим, $\times 400$.

А — интактное животное; Б — через 25 дней после психической травмы.

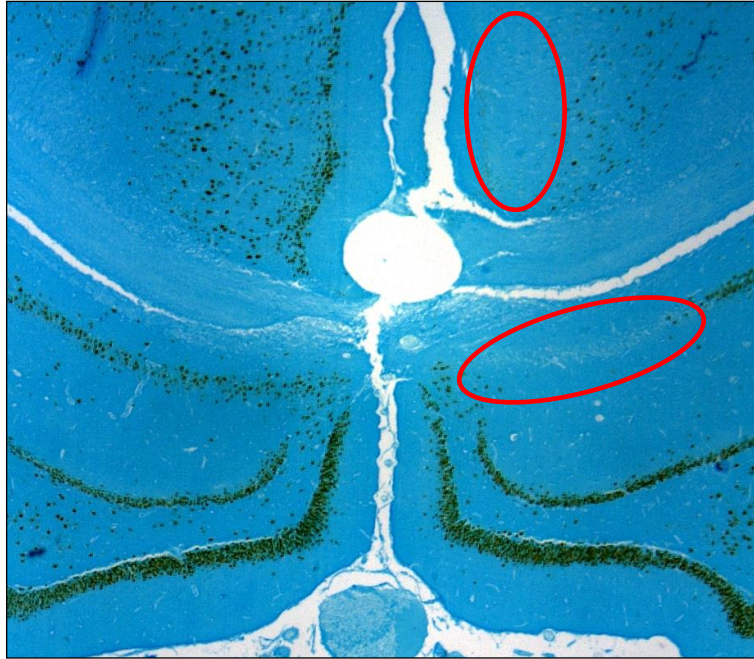


Рис. 3.16. Ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на NeuN в гиппокампе и лимбической коре крыс на позднем сроке после воздействия витального стресса.

Гиппокамп и лимбическая часть коры больших полушарий.

Иммуноцитохимическая реакция на NeuN, докраска астровым синим, $\times 40$.

Через 25 дней после психической травмы.

Красным цветом выделены зоны «выключения» реакции на маркёр NeuN.

При проведении иммуноцитохимической реакции на PCNA оценивали пролиферативную активность в мозге. Так же, как и на срезах мозга, фиксированного на раннем сроке после переживания стресса, пролиферация в нейрогенных зонах, в сравнении с контрольными животными, была снижена или полностью подавлена.

В зубчатой фации 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.

Интенсивность пролиферации в СВЗ характеризовали как ослабленную.

Кроме того, наблюдали PCNA⁺-клетки в областях мозга, не характерных для локализации пролиферирующих клеток у интактных животных: таламус, гипоталамус, стриатум.

В результате гистологического исследования головного мозга животных на позднем сроке после воздействия 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 фации гиппокампа и СВЗ. Нарушения в структурах мозга, выявленные на позднем сроке после стресса, имели более выраженный характер, чем регистрировавшиеся на раннем сроке.

Результаты, полученные при исследовании поведения животных на позднем сроке после воздействия острого витального стресса, отражают снижение исследовательской деятельности, коммуникативности, развитие состояния «депрессивности», или «поведенческого отчаяния», что подтверждает факт формирования постстрессового расстройства у переживших психогенную травму крыс. Однако достоверного снижения общей активности, как и достоверного снижения уровня

тревожности, не отмечалось. При этом, наряду с остальными поведенческими проявлениями, характерными для постстрессового расстройства, животные демонстрировали, как и на раннем сроке наблюдения, высокий уровень агрессивности. Вместе с тем, патологическая агрессия на позднем сроке после витального стресса проявлялась в значительно меньшей степени. Это отличие в поведенческих проявлениях, в совокупности с данными по оценке общей активности и тревожности на позднем сроке после витального стресса, может говорить о частичной компенсации поведенческих нарушений, наступающей к более позднему сроку наблюдения. Тем не менее, поведенческие признаки посттравматического расстройства, вызванного острым стрессом угрозы жизни, сохранялись у экспериментальных животных, хотя и в меньшей степени, чем это было отмечено на раннем сроке, в течение почти одного месяца после переживания ими психогенной травмы.

В результате гистологического исследования, проведённого на том же сроке после воздействия витального стресса, показано, что длительно сохраняющиеся отклонения в поведении крыс сопровождаются прогрессирующими морфофункциональными нарушениями в головном мозге. Как и на раннем сроке наблюдения, в мозге травмированных животных регистрировали массовые повреждение и гибель клеток, однако в большей степени. Ослабление иммуноцитохимической реакции на NeuN носило ярко выраженный характер, имело значительное распространение в мозге и чёткую анатомическую очерченность. На препаратах мозга стрессированных крыс наблюдали снижение, а во многих случаях (в гиппокампе) полное подавление пролиферативной активности. Кроме того, у животных, подвергнутых витальному стрессу, обнаруживали на позднем сроке после травмы пролиферирующие клетки в нехарактерных для локализации пролиферативных зон областях мозга. Таким образом, на позднем сроке наблюдения не только не происходило компенсации ранних постстрессовых структурно-функциональных нарушений в мозге, но наблюдалась их большая выраженность и отмечалось появление качественных отличий в характере изменений.

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

Для выявления вовлечённости дофаминергической нейромедиаторной системы в патогенез ПТСР использовали известный и применяемый в медицинской практике препарат пирибедил. В эксперименте на животных, подвергавшихся воздействию острого витального стресса, осуществляли курсовое введение пирибедила — агониста D₂, D₃ дофаминовых рецепторов. Данный препарат вводили животным в двух дозировках, что позволяло оценивать его дозозависимый эффект в отношении посттравматических поведенческих отклонений и структурных изменений в ЦНС. Введение препаратов, включая ФР, начинали с первых суток, следующих после дня, когда у животных моделировали стрессовую ситуацию. В период с 5 по 10 дни эксперимента исследовали поведение крыс в тех же тестах, которые применялись для оценки посттравматических поведенческих отклонений на раннем и позднем сроках после психогенной травмы. Препараты вводили животным за 30 мин до начала поведенческого тестирования. Декапитацию животных и фиксацию головного мозга производили через 25 дней после моделирования витального стресса. Гистологическое исследование выполняли на животных, получавших пирибедил исключительно в низкой дозировке (0,72 мг/кг).

3.3.1. Коррекция отклонений в поведении крыс после воздействия витального стресса

В тесте ОП (рис. 3.17) поведение животных, получавших пирибедил, характеризовалось достоверно бóльшими значениями по суммарному количеству актов ($p < 0,005$) (рис. 3.17, А) и количеству пересечённых квадратов ($p < 0,05$; в группе низкой дозировки) (рис. 3.17, Б) в сравнении с животными, получавшими после травмы ФР. Значения по данным показателям в обеих группах коррекции достигали уровня интактных животных. При этом суммарное количество актов в группе активного контроля было достоверно ниже ($p < 0,005$), чем у интактных крыс. У животных, которым в постстрессовом периоде вводили пирибедил, регистриро-

вали более высокие значения по длительности актов локомоции; в группе животных, получавших коррекцию в низкой дозировке, различие по этому показателю было достоверным — в сравнении с обеими контрольными группами ($p < 0,005$ и $p < 0,01$, соответственно). Вероятность обследования «норок» в обеих группах коррекции была достоверно выше ($p < 0,01$), чем у животных из группы активного контроля (рис. 3.17, В). Вероятность появления паттернов фризинга у животных, получавших пирибедил в дозировке 0,72 мг/кг, была достоверно меньшей ($p < 0,05$) по отношению к животным, получавшим ФР (рис. 3.17, Г). Тогда как животные из группы активного контроля характеризовались достоверно большей, по отношению к пассивному контролю, вероятностью появления актов фризинга ($p < 0,01$) (рис. 3.17, Г). В случае введения высокой дозы пирибедила (2,14 мг/кг) достоверных отличий по этому показателю, в сравнении с животными, получавшими после стресса ФР, не наблюдали.

Таблица 9.

Оценка поведения крыс в тесте «Открытое поле» на 5 сутки после витального стресса при введении в пост-стрессовый период пирибедила.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)			
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + физиол. раствор ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + пирибедил, низк. доз-ка ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + пирибедил, выс. доз-ка ($n_{\text{жив.}} = 7$)
Локомоция	P	0,17 ± 0,036	0,18 ± 0,026	0,21 ± 0,037	0,17 ± 0,036
	t, c	35,2 ± 8,9	35,2 ± 11,6	57,9 ± 9,3 *** ##	44,3 ± 12,9
Вертикальная активность	P	0,121 ± 0,039	0,080 ± 0,032	0,092 ± 0,023	0,063 ± 0,026 *
	t, c	23,95 ± 7,2	12,5 ± 7,3 *	14,9 ± 5,4 *	8,6 ± 3,5 *** #
Движение на месте	P	0,19 ± 0,045	0,25 ± 0,021 *	0,20 ± 0,052	0,23 ± 0,040
	t, c	24,3 ± 6,1	27,7 ± 4,7	20,2 ± 7,9	18,9 ± 3,6 ##
Груминг	P	0,029 ± 0,019	0,049 ± 0,021	0,037 ± 0,020	0,033 ± 0,018
	t, c	14,01 ± 10,2	32,4 ± 14,5 *	16,8 ± 12,5	31,2 ± 11,5 *
Обследование «норок»	P	0,046 ± 0,015	0,026 ± 0,0068 *	0,058 ± 0,020 ##	0,060 ± 0,018 ##
	t, c	7,1 ± 2,8	2,6 ± 1,1	7,7 ± 3,05	6,1 ± 2,1
Фризинг	P	0,011 ± 0,0046	0,043 ± 0,020 **	0,020 ± 0,015 #	0,025 ± 0,010 *
	t, c	1,004 ± 0,5	10,1 ± 4,7	2,5 ± 2,2	2,8 ± 1,6
Акты	n_{Σ}	157 ± 16	117 ± 14 ***	149 ± 10 ###	153 ± 16 ###
Квадраты		38 ± 7	30 ± 6	40 ± 7 #	41 ± 10

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,005$ (в отличие от группы пассивного контроля); # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,005$ (в отличие от группы активного контроля).

Обозначения: P — вероятность актов; t — длительность актов; n_{Σ} — суммарное количество актов/пересечённых квадратов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

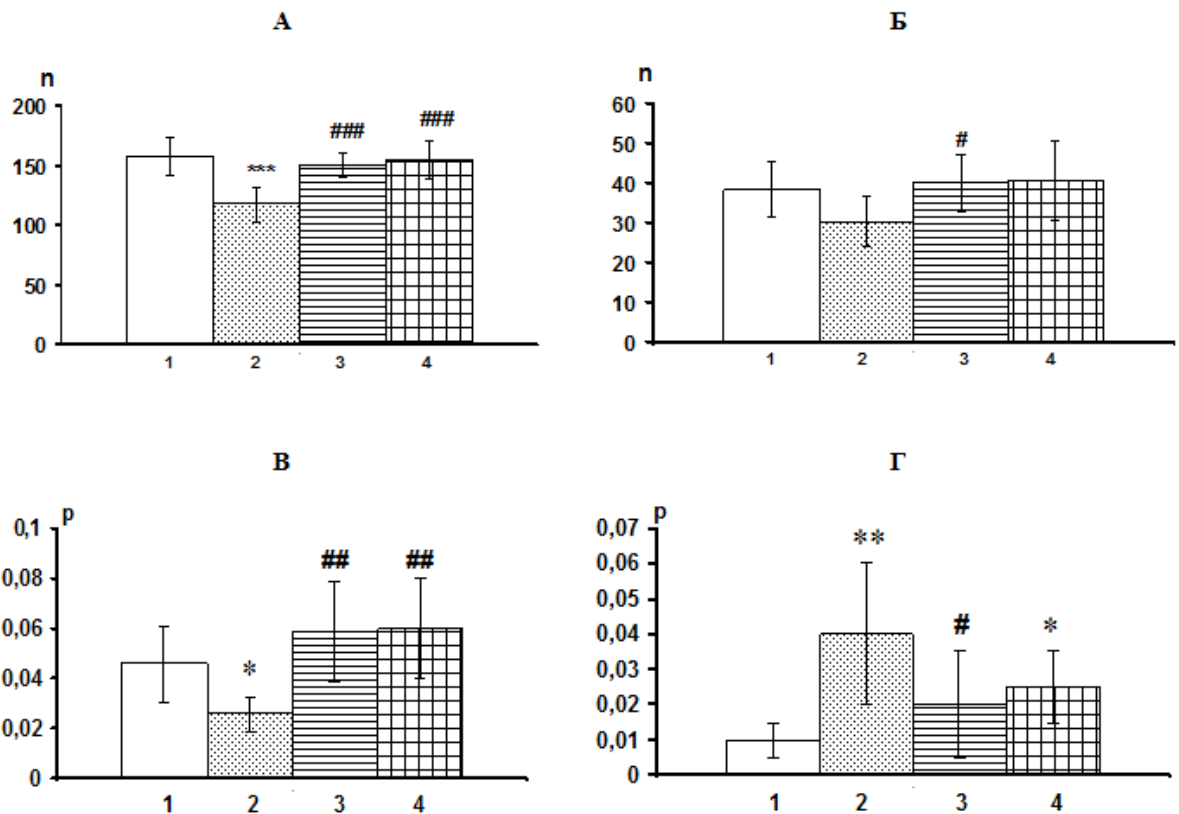


Рис. 3.17. Показатели модификации и коррекции поведения крыс после воздействия витального стресса по тесту «Открытое поле».

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) — количество пересечённых квадратов; (В) — вероятность актов обследования «норок»; (Г) — вероятность актов фризинга.

Примечание. 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 группы животных, которым вводили физиологический раствор).

Обозначения: p — значимость показателей.

Достоверно большее, чем в группе активного контроля, суммарное количество актов в тесте ОП у крыс, получавших пирибедил, свидетельствует о более высоком уровне общей активности у этих животных. Достоверно большая, чем у животных из группы активного контроля, вероятность обследования «норок» крысами, получавшими коррекцию, свидетельствует о большей интенсивности у этих животных исследовательской деятельности. Достоверно более низкая вероятность паттернов фризинга является признаком значительно меньшего уровня тревожности у животных, получавших пирибедил в низкой дозировке. Тогда как достоверно более высокая вероятность актов фризинга, наблюдавшаяся у крыс, получавших после травмы ФР, указывает на значительно большую тревожность этих животных, в сравнении с интактными. При этом в случае введения крысам, пережившим психогенную травму, высокой дозы пирибедила не отмечалось достаточной нормализации повышенного уровня тревожности.

В тесте КПЛ (рис. 3.18) среди животных, получавших пирибедил, не было выявлено достоверных различий по длительности нахождения на открытых «рукавах» лабиринта по отношению к обеим контрольным группам (рис. 3.18, А). В группе активного контроля, в сравнении с интактными крысами, отмечали достоверное меньшую длительность нахождения на открытых «рукавах» ($p < 0,05$) (рис. 3.18, А). Длительность нахождения на центральной площадке лабиринта у животных, получавших после стресса пирибедил в дозировке 0,72 мг/кг, была достоверно выше ($p < 0,05$), чем у интактных крыс (рис. 3.18, Б). Тогда как длительность нахождения на центральной площадке у крыс, получавших пирибедил в дозировке 2,14 мг/кг, достигала уровня интактного контроля (рис. 3.18, Б).

Таблица 10.

Оценка поведения крыс в тесте «Крестообразный приподнятый лабиринт» на 6 сутки после витального стресса при введении в постстрессовый период пирибедила.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)			
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + физиол. раствор ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + пирибедил, низк. доз-ка ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + пирибедил, выс. доз-ка ($n_{\text{жив.}} = 7$)
ОР	t, с	46,01 ± 26,01	14,2 ± 11,7 *	26,4 ± 18,99	28,3 ± 22,3
Ц		53,6 ± 10,6	70,6 ± 28,2	86,02 ± 33,4 *	52,5 ± 25,1
ЗР		198,1 ± 25,2	214,7 ± 33,2	186,8 ± 39,5	219,2 ± 42,1

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровне: * — $p < 0,05$ (в отличие от группы пассивного контроля).

Обозначения: ОР — открытый «рукав»; Ц — центральная площадка; ЗР — закрытый «рукав»; t — длительность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

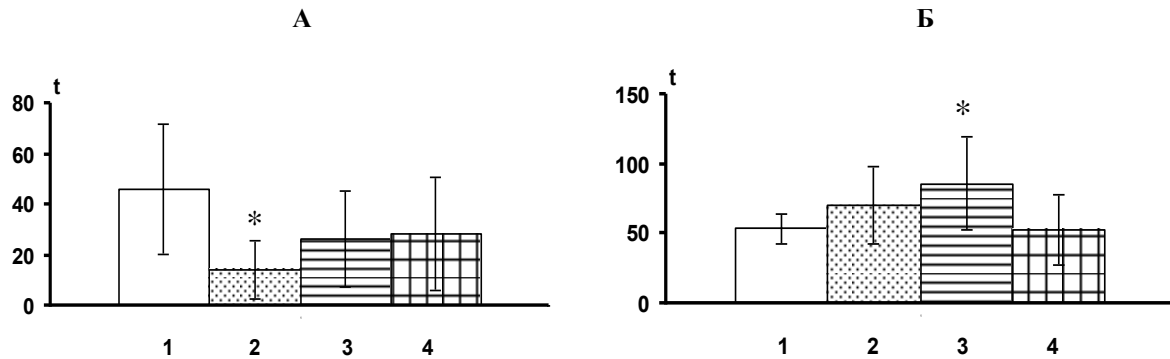


Рис. 3.18. Показатели модификации и коррекции поведения крыс после воздействия витального стресса по тесту «Крестообразный приподнятый лабиринт».

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) — длительность нахождения на открытых «рукавах»; (Б) — длительность нахождения на центральной площадке.

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$ (в отличие от группы интактного контроля).

Обозначения: p — значимость показателей.

Высокие значения по длительности нахождения на открытом «рукаве» лабиринта в тесте КПЛ у животных, получавших пирибедил, в сравнении с группой активного контроля, близкие к аналогичным значениям у интактных животных, могут свидетельствовать о сохранении, в результате введения пирибедила, у животных, перенёсших витальный стресс, уровня тревожности, близкого к норме. Однако в соответствии со значительно более высокой, чем у интактных животных, длительностью нахождения крыс, получавших коррекцию в низкой дозировке, на центральной площадке лабиринта, что может указывать на развитие у них фрустрированности и затруднённости в принятии решений, уровень тревожности этих крыс нормализовался не в полной мере.

В тесте ИР (рис. 3.19) крысы-резиденты, подвергнутые переживанию психогенной травмы и получавшие ФР, демонстрировали паттерны агрессии с частотой, более чем в два раза превышавшей значение аналогичного показателя у интактных животных ($p < 0,05$) (рис. 3.19, А). Поведение животных, получавших после перенесения витального стресса пирибедил в дозировке 0,72 мг/кг, характеризовалось достоверно более низкой, чем в группе активного контроля, вероятностью паттернов агрессии ($p < 0,05$). Значения по данному показателю достигали уровня интактных животных. У животных, получавших в посттравматический период пирибедил в дозировке 2,14 мг/кг, регистрировали значительно меньшую, по сравнению с обеими контрольными группами, частоту актов коммуникации ($p < 0,05$) (рис. 3.19, Б).

Таблица 11.

Оценка поведения крыс в тесте «Интродер – резидент» на 7–9 сутки после витального стресса при введении в пост-стрессовый период пирибедила.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)			
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + физиол. раствор ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + пирибедил, низк. доз-ка ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + пирибедил, выс. доз-ка ($n_{\text{жив.}} = 7$)
Ком	Р	$0,33 \pm 0,064$	$0,36 \pm 0,089$	$0,31 \pm 0,096$	$0,27 \pm 0,055$ * #
Агр		$0,013 \pm 0,0076$	$0,041 \pm 0,027$ *	$0,010 \pm 0,0087$ #	$0,021 \pm 0,015$
Защ		$0,0084 \pm 0,0058$	$0,012 \pm 0,010$	$0,012 \pm 0,011$	$0,0056 \pm 0,0064$

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$ (в отличие от группы пассивного контроля); # — $p < 0,05$ (в отличие от группы активного контроля).

Обозначения: Ком — коммуникативное поведение; Агр — агрессивное поведение; Защ — защитное поведение; Р — вероятность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

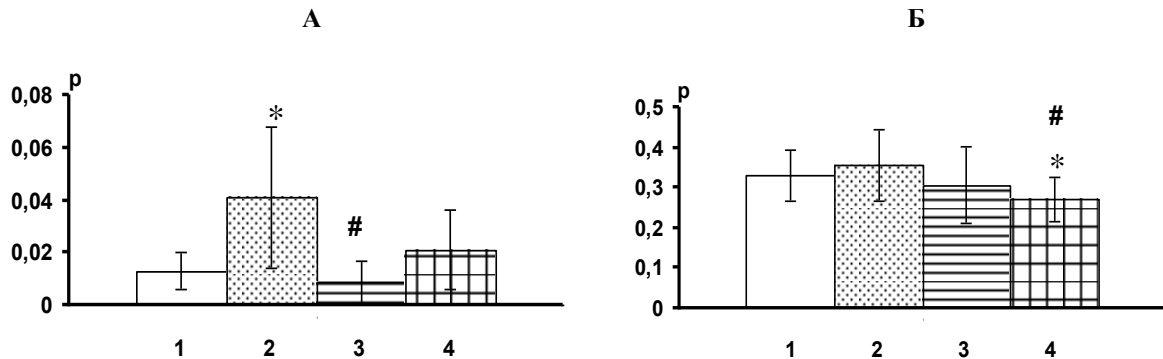


Рис. 3.19. Показатели модификации и коррекции поведения крыс после воздействия витального стресса по тесту «Интрuder – резидент».

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) — вероятность актов агрессивного поведения; (Б) — вероятность актов коммуникативного поведения.

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$ (в отличие от группы интактного контроля); # — $p < 0,05$ (в отличие от группы животных, которым вводили физиологический раствор).

Обозначения: p — значимость показателей.

Достоверно более высокая вероятность проявления паттернов агрессии в тесте ИР у крыс из группы активного контроля свидетельствует о существенно более высоком уровне агрессивности этих животных, сформировавшемся в результате перенесения витального стресса. При этом достоверно меньшая, в сравнении с группой активного контроля, вероятность актов агрессии у крыс, получавших после травмы пирибедил в низкой дозировке, близкая к значениям аналогичных показателей у интактных животных, указывает на существенно более низкий уровень агрессивности животных, получавших коррекцию в низкой дозировке, и сви-

детельствует о сохранении уровня агрессивности этих животных на нормальном уровне. Зарегистрированная у крыс, перенёсших витальный стресс и получавших пирибедил в высокой дозировке, достоверно меньшая, чем в обеих контрольных группах, частота появления коммуникативных паттернов является признаком значимо более низкого уровня коммуникативности у этих животных.

В тесте Порсолта (рис. 3.20) животные, получавшие после травмы пирибедил в дозировке 2,14 мг/кг, демонстрировали достоверно более низкие значения по длительности состояния иммобильности ($p < 0,05$), чем животные, получавшие пирибедил в дозировке 0,72 мг/кг. Поведение животных, получавших пирибедил в дозировке 2,14 мг/кг, характеризовалось достоверно более высоким, чем у животных, получавших после стресса ФР, уровнем активного плавания ($p < 0,05$).

Таблица 12.

Оценка поведения крыс в тесте Порсолта (принудительного плавания) на 10 сутки после витального стресса при введении в постстрессовый период пирибедила.

Паттерны и другие параметры	Показатели	Значения показателей по группам ($M \pm m$)			
		Интактный контроль ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + физиол. раствор ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + пирибедил, низк. доз-ка ($n_{\text{жив.}} = 7$)	Психотравма + пирибедил, выс. доз-ка ($n_{\text{жив.}} = 7$)
АПл	t, с	246,8 ± 61,8	243,4 ± 38,4	253,8 ± 72,7	328,8 ± 84,1 #
ППл		300,8 ± 70,7	307,7 ± 26,4	274,2 ± 44,4	237,97 ± 84,02
Имм		52,4 ± 32,02	48,8 ± 19,2	71,96 ± 40,2	33,2 ± 26,6 *

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$ (между группами животных, получавших пирибедил в разных дозировках); # — $p < 0,05$ (в отличие от группы активного контроля).

Обозначения: АПл — активное плавание; ППл — пассивное плавание; Имм — иммобильность; t — длительность актов; M — среднее значение; m — ошибка среднего; $n_{\text{жив.}}$ — количество животных в группах; p — значимость показателей.

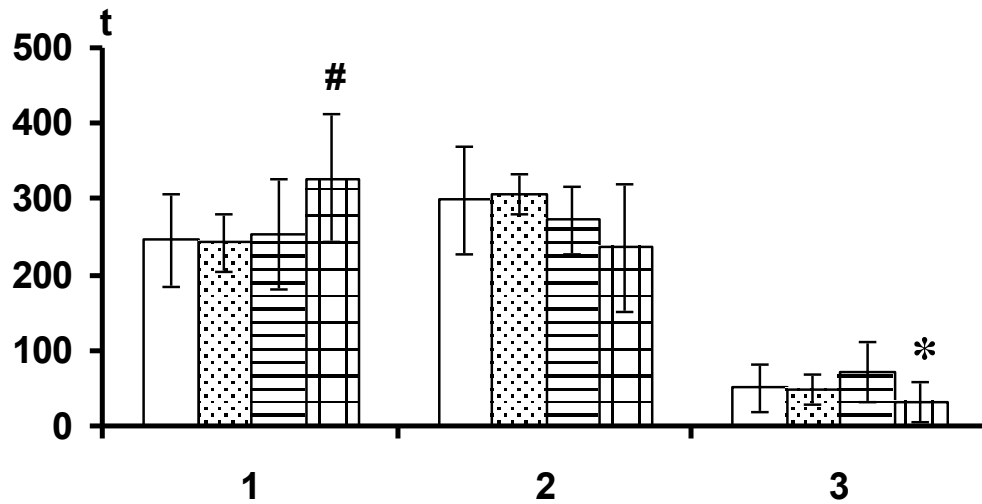


Рис. 3.20. Показатели модификации и коррекции поведения крыс после воздействия витального стресса по тесту Порсолта (принудительного плавания).

По оси абсцисс: 1 — активное плавание; 2 — пассивное плавание; 3 — иммобильность.

По оси ординат — длительность поведенческих актов.

Примечание. Достоверность различий по средним значениям показателей поведения на уровнях: * — $p < 0,05$ (различие между группами животных, получавших пирибедил в разных дозировках); # — $p < 0,05$ (в отличие от группы животных, которым вводили физиологический раствор).

Обозначения: □ — интактный контроль; ▨ — введение физиологического раствора; ▤ — введение пирибедила в дозе 0,72 мг/кг; ▧ — введение пирибедила в дозе 2,14 мг/кг; p — значимость показателей.

Достоверно более низкие значения по показателю иммобильности в тесте Порсолта у животных, получавших после травмы пирибедил в высокой дозировке, по сравнению с животными, получавшими пирибедил в низкой дозировке, указывают на значительно более низкий уровень «депрессивности» первой группы крыс. Выявленные у крыс, получавших после травмы пирибедил в высокой дозировке, достоверно большие, чем у животных, получавших ФР, значения по длительности активного плавания также свидетельствуют о существенно меньшем уровне «депрессивности» у животных из данной экспериментальной группы.

В результате тестирования поведения животных, получавших после психогенной травмы пирибедил, были выявлены следующие изменения. Поведение животных, получавших фармакологическую коррекцию, характеризовалось более высоким, в сравнении с группой активного контроля, уровнем общей активности, близким к уровню интактных животных. Отмечали более высокий уровень исследовательской деятельности. Также регистрировали более низкий уровень тревожности, который был достоверно нормализован только в группе животных, получавших коррекцию в низкой дозировке. Регистрировали более низкий уровень агрессивности, причём различие было достоверным также только в группе крыс, которым вводили пирибедил в низкой дозировке. Тогда как у животных, получавших пирибедил в высокой дозировке, отмечали достоверно более низкий уровень коммуникативности. Также для животных, получавших коррекцию в низкой дозировке, был характерен достоверно более низкий уровень «депрессивности».

3.3.2. Коррекция морфофункциональных нарушений в головном мозге крыс после воздействия витального стресса

Проводили оценку гистологических изменений в головном мозге крыс, однократно подвергавшихся действию острого витального стресса и получавших в экспериментальной группе в постстрессовый период пирибедил, а в группе активного контроля — ФР. Соотносили полученные наблюдения с результатами гистологического исследования мозга крыс из группы интактного контроля.

На гистологических препаратах регистрировали следующие структурные и цитохимические изменения.

При окраске по Нисслию на срезах мозга животных, перенёсших психогенную травму и получавших в постстрессовом периоде пирибедил, выявляли повреждённые клетки в гиппокампе, однако в меньшем количестве, чем у животных, подвергнутых действию стресса, но не получавших коррекции. Расположение нейронов в пирамидном слое гиппокампа, а также морфология и ориентация их дендритных отростков характеризовались большей приближенностью к интактному контролю. Локальные «выпадения» (отсутствие одного или нескольких пирамидных нейронов в слое) у животных, получавших пирибедил, отмечали реже. Линия пирамидного слоя клеток на протяжении всех полей гиппокампа у животных, получавших после травмы пирибедил, также была более ровной, чем у крыс, подвергнутых стрессу, но не получавших коррекции.

Степень повреждения гиппокампа в группе коррекции при окраске по Нисслию характеризовали как умеренную.

В КБП у животных, получавших фармакологическую коррекцию после витального стресса, в отличие от группы, получавшей после травмы ФР, повреждённых клеток не наблюдали или регистрировали их единично.

Протективного эффекта в отношении структурных нарушений в СОЯ у травмированных животных, получавших после травмы пирибедил, отмечено не было. Так же, как и в группе активного контроля, большая часть клеток СОЯ являлась гиперхромными и сморщенными нейронами.

При проведении иммуноцитохимической реакции на NeuN (рис. 3.21) у крыс, которым после воздействия стресса вводили пирибедил, в большинстве случаев не отмечали изменения интенсивности или исчезновения данной реакции, наблюдавшихся в группе активного контроля, или отмечали их в меньшей степени. Реакция была интенсивна, распределение хромогена в клетке — равномерно, — как в ядре, так и в перинуклеарной цитоплазме. По морфологическим и цитохимическим характеристикам клетки, выявленные с помощью реакции на NeuN, у животных из группы коррекции были близки к интактным.

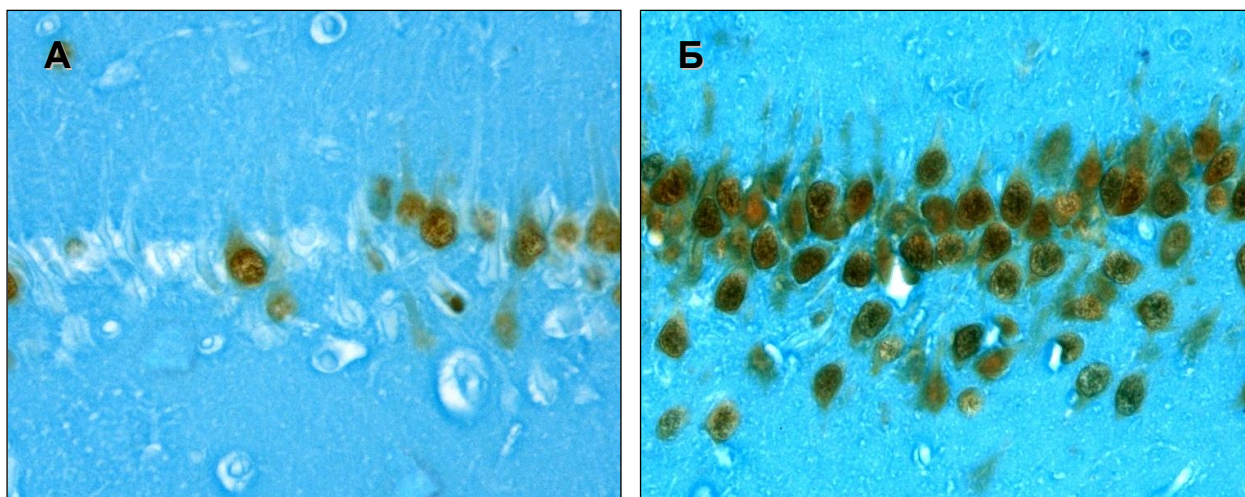


Рис. 3.21. Ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на NeuN в гиппокампе крыс на позднем сроке (через 25 дней) после воздействия витального стресса и предотвращение развития выявленного цитохимического нарушения в группе фармакологической коррекции.

Гиппокамп, поле СА3.

Имуноцитохимическая реакция на NeuN, докраска астровым синим, $\times 400$.

А — животное через 25 дней после психической травмы; Б — животное, получавшее пирибедил в дозе 0,72 мг/кг в течение 23 сут эксперимента (материал взят через 25 дней после психогенной травмы).

В гиппокампе слой пирамидных нейронов, за редкими исключениями, был неповреждённым и не имел «изломов». Расположение пирамидных клеток в слое было равномерным. На некоторых препаратах отмечалось повышение интенсивности иммуноцитохимической реакции — «яркости» и контурированности выявляемых нейронов.

В КБП ослабления иммуноцитохимической реакции на NeuN в группе коррекции в большинстве случаев не наблюдали. Выявляемые с помощью этой реакции нейроны были идентичны наблюдавшимся у интактных животных.

При проведении реакции на PCNA в гиппокампе животных из группы фармакологической коррекции регистрировали отдельные пролиферирующие клетки. Таким образом, у животных, получавших после травмы пирибедил, не происходило полного подавления пролиферации в этой структуре, в отличие от группы активного контроля.

Оценка пролиферативной активности в СВЗ показала, что фармакологическая коррекция в большинстве случаев не оказывала значимого эффекта на интенсивность пролиферации в этой области. Тем не менее, у отдельных животных наблюдали сохранение пролиферативной активности в СВЗ на интактном уровне.

В среднем уровень пролиферативной активности в СВЗ у животных, получавших фармакологическую коррекцию, характеризовали как умеренно сниженный.

В нехарактерных для локализации пролиферирующих клеток областях мозга у крыс, получавших после воздействия витального стресса пирибедил, в отличие от животных группы активного контроля, PCNA⁺-клеток не регистрировали.

В результате гистологического исследования головного мозга животных, получавших фармакологическую коррекцию после воздействия витального стресса, были выявлены такие морфофункциональные изменения в мозге, как гиперхромия/сморщивание нейронов гиппокампа, КБП (единичные клетки), СОЯ, ослабление реакции на NeuN (у отдельных животных) в гиппокампе, КБП, снижение интенсивности пролиферации в субгранулярном слое зубчатой фасции гиппокампа и СВЗ. Отличия наблюдавшихся у животных, получавших в пост-

стрессовом 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. Также у животных, получавших фармакологическую коррекцию после стресса, не наблюдалось появления пролиферирующих клеток в не характерных для этого областях мозга.

В результате проведения курсовой фармакологической коррекции, крысы, подвергнутые однократному витальному стрессу, демонстрировали в тех же поведенческих тестах, в которых исследовали поведение контрольных животных, более приближенные к норме показатели. Так, внутрибрюшинное введение пирибедила в течение 23 сут после воздействия психогенного стресса предотвращало развитие у стрессированных животных посттравматических поведенческих и эмоциональных отклонений. Уровни двигательной активности, тревожности, коммуникативности, исследовательской деятельности, агрессивности и «депрессивности» достоверно отличались от аналогичных показателей у травмированных животных, не получавших коррекции, и были приближены к показателям поведения у интактных животных.

Данные характеристики поведения, зарегистрированные у животных, получавших после психогенной травмы пирибедил, сопровождалось следующими структурными и функциональными изменениями в головном мозге. Отмечали повреждение клеток гиппокампа, гипоталамуса и КБП по типу гиперхромии и сморщивания, а также нарушение расположения и морфологии пирамидных нейронов и их отростков в гиппокампе. Однако выраженность этих проявлений (в отношении КБП и гиппокампа) была меньше, чем у животных из группы активного контроля, — получавших после витального стресса инъекции ФР. Положительного эффекта введения пирибедила в отношении повреждения нейронов СОЯ не наблюдали. При этом оценка результатов иммуноцитохимической реакции на NeuN показала выраженный нейропротективный эффект пирибедила в отношении

цитохимических нарушений, выявленных в гиппокампе и КБП травмированных животных. У большинства животных, получавших фармакологическую коррекцию, не наблюдалось ослабления или исчезновения реакции на NeuN в гиппокампе и КБП. При оценке реакции на PCNA также отмечали протективный эффект введения пирибедила в посттравматический период после витального стресса. В гиппокампе экспериментальных животных не происходило полного подавления нейрогенеза: введение пирибедила обеспечивало сохранение в этой структуре протекания пролиферативных процессов. Выраженного эффекта пирибедила в отношении пролиферативной активности в СВЗ выявлено не было, однако у некоторых животных, получавших фармакологическую коррекцию, отмечали сохранение пролиферации в данной зоне на уровне интактных крыс.

ОБСУЖДЕНИЕ

Современные клинические исследования, посвящённые изучению механизмов развития постстрессовой патологии, демонстрируют факт формирования психических и поведенческих отклонений у людей, подвергшихся воздействию экстремальных стрессогенных стимулов (Грачева Л. В., 2012). Одно из наиболее тяжёлых последствий переживания психотравмирующих ситуаций у человека — ПТСР. Данное расстройство формируется в результате переживания чрезмерных, выходящих за рамки повседневной жизни стрессовых воздействий, каковыми являются участие в боевых действиях, ситуации захвата заложников, утрата близких, а также техногенные катастрофы и стихийные бедствия. В клинической картине ПТСР доминирующую роль играет депрессивный синдром. Среди прочих проявлений этого расстройства выделяют нарушения в сфере агрессивности, тревожности, социальной коммуникации, а также специфические отклонения в работе памяти. Психоэмоциональные нарушения, наблюдающиеся у людей при ПТСР, характеризуются длительным протеканием и отсутствием тенденции к полной спонтанной нормализации. К возможным механизмам развития таких нарушений относят различные функциональные, в том числе молекулярно-клеточные, а также структурные изменения в мозге (Tsikunov S. G. *et al.*, 2003, 2010; Heim C., Nemeroff C. B., 2009; Skelton K. *et al.*, 2012).

Имеющиеся литературные сведения по проблеме постстрессовых расстройств, касающиеся в основном человека, дают основание предполагать вовлечённость структурно-функциональных нарушений в мозге в реализацию и поддержание долговременных психических и поведенческих отклонений, наблюдающихся при ПТСР. Известно, что основным этиологическим фактором развития ПТСР является психическая травма (витальный стресс). Экспериментальные работы по ПТСР встречаются в литературе редко, т. к. изучение этого вида патологии осложнено отсутствием валидных моделей постстрессовых расстройств на

животных. В настоящем исследовании использована экспериментальная модель ПТСР на крысах, разработанная в Физиологическом отделе им. И. П. Павлова ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН (Цикунов С. Г. и др., 2000, 2005а, 2003, 2006), и соответствующая международному стандарту по критериям валидности моделей психопатологии. Поведенческие и биохимические изменения, формируемые у животных в данной модели, развиваются вследствие однократного переживания острого витального стресса, не связанного с физическим воздействием, — данное воздействие сопоставимо с явлением острой психической травмы у человека. Отклонения в поведении крыс, переживших воздействие витального стресса, обладают чертами сходства с симптоматикой ПТСР у человека: повышенным уровнем тревожности и наличием реакций страха в сочетании с «депрессивностью», повышенной агрессивностью и проявлениями патологической агрессии. Биохимические изменения, регистрируемые у животных в данной модели, также обладают чертами сходства с нарушениями метаболизма, наблюдаемыми при постстрессовой патологии в клинике: резким возрастанием уровня триглицеридов в сочетании с падением уровня липопротеинов высокой плотности и общего уровня холестерина в плазме крови (Пятибрат Е. Д. и др., 2012; Цикунов С. Г. и др., 2012b). Указанные нарушения у животных подвергаются коррекции при введении им в постстрессовый период антидепрессантов различных групп, что свидетельствует о чувствительности данной модели к действию специфических препаратов и косвенно указывает на общность нейрофизиологического субстрата, вовлечённого в формирование перечисленных экспериментальных нарушений и обуславливающего развитие соответствующих клинических проявлений данного заболевания (Tsikunov S. G. *et al.*, 2010; Пшеничная А. Г. и др., 2010).

В настоящей работе проведена оценка поведенческих изменений, возникающих у крыс в результате воздействия острого витального стресса, вызванного переживанием ситуации угрозы жизни, в динамике от одной недели до месяца. Выполнены исследования, направленные на выявление и характеристику структурных, цитохимических и функциональных нарушений в мозге стрессированных

животных и соотнесение этих нарушений с наблюдающимися у переживших стресс крыс поведенческими отклонениями.

Переживание крысами витального стресса в опыте сопровождалось проявлением изменённого поведения. Животные группировались, демонстрировали паттерны, свидетельствующие о повышении уровня тревожности, развитии реакций страха, ужаса (фризинг). В отдельных случаях поведение животных характеризовалось ажитированностью. Кроме того, крысы, в большинстве своём, не решали предложенную им задачу по избеганию нахождения в травматической ситуации, тогда как им предоставлялась возможность покинуть террариум во время моделирования витального стресса. Это может указывать на развитие у данных животных транзиторных когнитивных нарушений, т. к. типичное поведение крыс состоит во врождённом стремлении избегать открытых пространств и уходить в более тёмное место.

Для оценки поведенческих изменений, вызванных у крыс переживанием психотравмирующей ситуации, осуществлялась регистрация поведения животных с использованием специализированных тестов. Оценка поведения проводилась на раннем (до 9 дней) и на позднем (до 25 дней) сроках после психогенного стресса. В результате исследования поведения крыс, подвергнутых воздействию витального стресса, были выявлены следующие нарушения. У животных отмечали, как на раннем, так и на позднем сроке после указанного воздействия, снижение, в сравнении с интактными группами, уровня общей двигательной активности (депрессия поведения) и исследовательской деятельности и повышение уровня тревожности в тесте ОП. Также регистрировали повышение уровня тревожности в тесте КПЛ. Наблюдали снижение уровня коммуникативности и возрастание уровня агрессивности в тесте ИР, в том числе демонстрацию животными патологической агрессии (продолжение атакующих действий при полной позе подчинения у противника). Кроме того, было отмечено появление и возрастание представленности в поведении признаков «депрессивности» в тесте Порсолта — развитие состояния «поведенческого отчаяния». Помимо указанных нарушений, поведение травмированных крыс характеризовалось наличием незавершённых или изменённых пове-

денческих актов и последовательностей актов, что является признаком высокого уровня тревожности животных и, возможно, демонстрацией состояния дискомфорта (фрустрированности). Различия в поведенческих изменениях, наблюдавшихся на раннем и позднем сроках после воздействия витального стресса, состояли в том, что на позднем сроке наблюдения уровень агрессивности животных в тесте ИР, в особенности представленность в поведении реакций патологической агрессии, был ниже, чем у животных, поведение которых оценивалось на раннем сроке после стресса. Кроме того, отмечалось некоторое снижение, в сравнении с наблюдениями на раннем сроке, повышенного в результате стресса уровня тревожности (главным образом, по количеству паттернов фризинга в тесте ОП). Однако нормализации поведения к позднему сроку наблюдения не происходило ни по одной из характеристик.

Таким образом, поведение животных, как на раннем, так и на позднем сроке после витального стресса, носило характер постстрессового расстройства. Комплексная оценка наблюдавшихся у животных поведенческих нарушений позволила выявить их сходство с клиническими характеристиками ПТСР. Выявленные нарушения формировались вследствие воздействия на животных однократного острого витального стресса, сопоставимого у человека с феноменом психической травмы, — основного этиологического фактора развития ПТСР. Наблюдавшееся снижение общей активности и исследовательской деятельности животных (т. н. депрессия поведения), наряду со снижением коммуникативности, а также проявлением «поведенческого отчаяния» в тесте Порсолта, можно характеризовать как депрессивноподобное состояние, коррелирующее с депрессивным синдромом у человека. Повышенный уровень тревожности и демонстрация животными реакций страха отражали состояние, также характерное для людей, страдающих ПТСР, — повышенных тревожности и реакций страха в постстрессовом, в т. ч. отдалённом, периоде (Цикунов С. Г. и др., 2012). Повышенный уровень агрессивности и проявление животными актов патологической агрессии по отношению к партнёрам в тесте ИР является признаком, сопоставимым с нарушениями в сфере агрессивности у человека, и отличающим данное расстройство от психогенной

или других видов депрессии. Выявленные нарушения сохранялись длительно, на протяжении почти одного месяца, что для крыс является большим сроком, если учесть общую продолжительность их жизни 2–3 года. Указанные выше сведения характеризуют сформированное экспериментальное постстрессовое расстройство как адекватную по критериям этиологии и симптоматики, а также соответствующую по характеру течения моделируемому заболеванию, модель ПТСР на крысах.

Основной гипотезой формирования и поддержания депрессивных нарушений психики, характерных, в т. ч., для постстрессовой патологии, на сегодня является моноаминовая концепция (Нуллер Ю. Л., Михаленко И. Н., 1988). Известно, что применение антидепрессантов у человека при депрессивных расстройствах нормализует изменённую активность нейромедиаторных систем в мозге и приводит к восстановлению нарушенного функционирования, в частности, эмоциональной сферы (Мосолов С. Н., 2005). В многочисленных экспериментальных исследованиях показано, что введение антидепрессантов, регулирующих метаболизм моноаминов в мозге, животным после перенесения ими различных стрессовых воздействий в значительной мере нормализует вызванные стрессом поведенческие и нейрохимические отклонения (Кудрявцева Н. Н., Бакштановская И. В., 1991; Саркисова К. Ю., Фоломкина А. А., 2010; Castro J. E. *et al.*, 2010). Кроме того, имеются сведения об успешности применения антидепрессантов в клинике с целью купирования симптомов ПТСР (Аведисова А. С., 2009; Frančišković T. *et al.*, 2011), что также свидетельствует в пользу некоторой общности патогенеза ПТСР и депрессивных расстройств.

Среди возможных механизмов формирования депрессивных изменений при различных формах психопатологии также называют нарушение процессов нейрогенеза (Samuels B. A., Hen R., 2011). Предполагается, что нарушение нейрогенеза играет одну из ключевых ролей в формировании функциональных и структурных изменений в мозге при депрессии (Krishnan V., Nestler E. J., 2008; Bar M., 2009), а также, вероятно, ПТСР (Bremner J. D., 2006b; Van Boven R. W. *et al.*, 2009). Поскольку депрессивный синдром является ведущим компонентом в клинике ПТСР, можно ожидать нарушения процессов нейрогенеза и при этом заболевании. Экс-

периментально показано, что воздействие как хронических, так и острых стрессовых стимулов на животных может приводить к изменению интенсивности нейрогенеза в мозге (Námestková K. *et al.*, 2005; Czéh V. *et al.*, 2007). Данные по этому вопросу противоречивы, однако бóльшая часть работ указывает на снижение пролиферативной активности в нейрогенных зонах мозга таких животных.

Сообщается, что рецепторы серотонина, норадреналина, дофамина и некоторых других медиаторов, менее распространённых в ЦНС, связаны с регуляцией уровня нейрогенеза (Klempin F. *et al.*, 2010 и др.). Показано, что одним из эффектов введения антидепрессантов является повышение уровня пролиферации в нейрогенных зонах мозга (Kodama M. *et al.*, 2004). Также продемонстрировано, что у животных, подвергшихся стрессовым воздействиям в эксперименте, отмечается нормализация сниженной в результате стресса интенсивности нейрогенеза при введении им в постстрессовый период антидепрессантов (Czéh V. *et al.*, 2001) и фармакологических препаратов других групп (Gould E. *et al.*, 1997).

Кроме того, известно, что наступление клинического эффекта при приёме антидепрессантов происходит не ранее двух недель от начала введения препарата. Одним из возможных объяснений этого является отсроченность действия антидепрессантов на интенсивность появления новых популяций НСК в мозге (Sahay A., Hen R., 2007). На основании данных ряда исследователей можно предполагать, что фармакологические препараты и различные типы воздействий, влияющие на метаболизм нейромедиаторов в мозге, также опосредуют процессы выживания, дифференцировки и функционального встраивания новых нейральных клеток-предшественниц в нейронные сети (Jun H. *et al.*, 2012).

Для изучения предполагаемых структурных и функциональных нарушений в головном мозге крыс, переживших воздействие витального стресса, нами было проведено гистологическое исследование. С целью сопоставления выявленных у крыс поведенческих отклонений со структурными изменениями в мозге фиксацию материала для проведения гистологического исследования осуществляли на раннем и позднем сроках после психотравмирующего воздействия у тех же животных, у которых оценивалось поведение. Оценка результатов гистологического

исследования мозга крыс, показала наличие ряда структурных и функциональных нарушений. Установлено, что однократное воздействие острого витального стресса в эксперименте на животных приводит к развитию в мозге повреждения нервных клеток по типу гиперхромии и сморщивания уже на раннем сроке наблюдения. Наибольшее распространение повреждённых нейронов в мозге было характерно для гиппокампальной формации, КБП, а также СОЯ гипоталамуса. Наиболее плотное расположение гиперхромных и сморщенных нейронов в гиппокампе было отмечено в области СА3. В КБП повреждённые клетки встречались группами по несколько. Тогда как почти все нейросекреторные клетки СОЯ гипоталамуса были гиперхромными или сморщенными. Также в мозге травмированных животных регистрировали ослабление либо отсутствие иммуноцитохимической реакции на белок NeuN. Кроме того, в результате проведённого гистологического исследования было выявлено снижение интенсивности, а в отдельных случаях полное подавление пролиферации клеток нейрогенных зон головного мозга. Различия результатов гистологического исследования мозга, полученные на раннем и позднем сроках после психотравмирующего воздействия, заключались в большей степени выраженности выявленных морфофункциональных нарушений в позднем постстрессовом периоде. Таким образом, однократный витальный стресс запускает процессы, которые за период наблюдения не только не компенсировались, но усугублялись.

Возможным результатом дальнейшего развития состояния гиперхромии и сморщивания нервных клеток является их гибель, что позволяет трактовать фиксированную в настоящем исследовании картину как инициированное и длительно персистирующее повреждение клеток мозга.

Механизм исчезновения белка NeuN из ядер части клеток гиппокампа и КБП у крыс, подвергнутых однократному переживанию витального стресса, остаётся неясным. Возникает вопрос, является ли это результатом нарушения синтеза данного белка нервными клетками или следствием его ускоренной деградации в структурах мозга, повреждённых психогенным стрессовым воздействием. Из литературы известен только один факт исчезновения иммуноцитохимической реак-

ции на NeuN, вызванного острым экспериментально индуцированным патологическим процессом — ишемией головного мозга (Кирик О. В. и др., 2009). Ослабление/исчезновение иммуноцитохимической реакции на белок NeuN на модели ПТСР показано впервые. Предполагаемыми механизмами выявленного феномена ослабления/исчезновения иммуноцитохимической реакции на NeuN на препаратах головного мозга крыс, переживших витальный стресс, могут являться как ускоренный распад данного белка, так и нарушение его синтеза в нейронах, повреждённых в результате воздействия травматического стресса.

В любом случае, как мы полагаем, это нарушение отражает некоторое дисфункциональное состояние нейрона, предшествующее по стадии развития повреждения его гиперхромии и сморщиванию, что подтверждается и другими исследованиями (Коржевский Д. Э. и др., 2006b). Предполагается, что феномен нарушения иммуноцитохимической реакции на NeuN в нейронах ЦНС на модели ПТСР у крыс, как и сморщивание нервных клеток, является косвенным морфологическим признаком развития апоптотических и нейродегенеративных процессов в мозге.

Наличие нарушений синтеза (или ускорения распада) белка NeuN в нейронах гиппокампа при отсутствии таких нарушений в нейронах гипоталамуса, а также большая выраженность этих нарушений в гиппокампе по сравнению с КБП, может свидетельствовать о преимущественной вовлечённости гиппокампальных нейронов в процессы повреждения нервной ткани вследствие эксайтотоксических механизмов и последующей гибели клеток мозга в результате травмирующих стрессовых воздействий.

Выявленное ослабление и подавление пролиферативной активности в основных нейрогенных зонах мозга свидетельствует о нарушении в мозге травмированных животных процессов нейропластичности (адаптивного/репаративного гистогенеза нервной ткани).

Таким образом, в настоящей работе у крыс, однократно подвергнутых воздействию витального стресса, наряду с яркими поведенческими отклонениями, такими как ослабление двигательной активности, исследовательской деятельно-

сти, коммуникативного поведения, повышение уровней тревожности и агрессивности, а также появление «депрессивности», наблюдали структурные и функциональные нарушения в мозге — регистрировали гибель клеток, цитохимические изменения, затрагивающие процессы синтеза белка NeuN в нервных клетках, а также ослабление нейрогенеза.

Многими исследованиями показано, что в мозге пациентов, страдающих ПТСР и/или имеющих в анамнезе психотравматические переживания, регистрируются молекулярно-клеточные (Geuze E. *et al.*, 2008a), молекулярно-генетические (Broekman B. F. *et al.*, 2007; Su Y. A. *et al.*, 2008 (*postmortem*-исследование); Xie P. *et al.*, 2010), функциональные (дисбаланс активности нейромедиаторных систем, нарушения электрофизиологической активности мозга) (Davis L. L. *et al.*, 1997; Ehlert U. *et al.*, 1999; Geraciotti T. D. Jr *et al.*, 2001; Segman R. H. *et al.*, 2002; O'Donnell T. *et al.*, 2004; Drury S. S. *et al.*, 2009; Шадрина И. В. и др., 2011; Skelton K. *et al.*, 2012) и макроморфологические (уменьшение объёмов гиппокампа, мозолистого тела, отдельных областей КБП) (Yehuda R., 1999a; Hull A. M., 2002; Graef F. G., 2003; Winter H., Irle E., 2004; Karl A. *et al.*, 2006; Weber M. *et al.*, 2013) изменения. Структурные нарушения в ЦНС, согласно данным ряда исследователей, являются одним из механизмов развития и длительного сохранения симптоматики ПТСР (Richert K. A. *et al.*, 2006; Bremner J. D., 2006a; Tischler L. *et al.*, 2006; Geuze E. *et al.*, 2008b). Сходные с изменениями при ПТСР структурные изменения в мозге наблюдаются и при других формах психической патологии (Arango C. *et al.*, 2001; Cannistraro P. A., Rauch S. L., 2003; Hamilton J. P. *et al.*, 2008). В частности, аналогичное изменение объёмов определённых структур мозга регистрируется при депрессии (Videbech P., Ravnkilde B., 2004; Eker C., Gonul A. S., 2010). Среди возможных механизмов формирования структурно-функциональных изменений в мозге при ПТСР и депрессиях называют гибель, ремоделинг нервных клеток, нарушение нейрогенеза (Watanabe Y. *et al.*, 1992; McEwen B. S., Sapolsky R. M., 1995; Abrous D. N. *et al.*, 2005; Bremner J. D., 2006b; Conrad C. D., 2006; Van Boven R. W. *et al.*, 2009). Отмеченные сведения, наряду с известными нейрохимическими сходствами (снижение в мозге уровня нейро-

медиаторов, в частности, моноаминовой группы), имеющимися в патогенезе ПТСР и депрессивных расстройств, а также успешностью применения анти-депрессантов в клинике с целью купирования ряда симптомов ПТСР, указывают на возможную общность некоторых звеньев патогенеза посттравматических расстройств и других заболеваний, в клинической картине которых значимое место занимает депрессивный синдром. В настоящем исследовании были выявлены изменения, указывающие на протекание в мозге данных патологических процессов, у крыс на модели острой психогенной травмы, вызванной переживанием стресса угрозы жизни. Таким образом, полученные нами результаты, не противореча данным литературы, свидетельствуют о том, что основой долговременного поддержания тревожно-депрессивной симптоматики и поведенческих отклонений при ПТСР и депрессиях являются структурные изменения в ЦНС.

Для выявления степени вовлечённости дофаминергической системы мозга в формирование и поддержание выявленных поведенческих отклонений и структурных нарушений в мозге, а также с целью проверки возможности фармакологической коррекции данных нарушений, было проведено исследование с введением крысам, перенёвшим стресс угрозы жизни, агониста дофаминовых D₂-, D₃-рецепторов пирибедила. В ходе данного исследования проводилась оценка поведения животных по методу нейрофармакологического анализа. Кроме того, по завершении оценки поведения животных, получавших фармакологическую коррекцию, осуществлялось гистологическое исследование их головного мозга.

Результаты нейрофармакологического анализа поведения животных, перенёвших воздействие витального стресса и получавших пирибедил, показали следующие отличия от контрольных животных. Крысы, получавшие в постстрессовый период внутрибрюшинные инъекции пирибедила, демонстрировали достоверно более высокие уровни общей/двигательной активности и исследовательской деятельности, а также более низкие уровни тревожности, агрессивности и «депрессивности» в сравнении с контролем. Таким образом, поведенческие отклонения под влиянием пирибедила подвергались частичной или полной нормализации. Полученные результаты согласуются с литературными сведениями о во-

влечённости дофаминовой системы в регуляцию поведения (Шабанов П. Д. и др., 2002).

Гистологическое исследование мозга травмированных животных из группы фармакологической коррекции также показало наличие ряда нормализующих эффектов проведённой коррекции в отношении развития структурных и функциональных нарушений в различных отделах ЦНС. Так, регистрировали меньшую, чем у животных, переживших психогенный стресс, но не получавших коррекции, выраженность повреждения клеток мозга по типу гиперхромии и сморщивания в КБП и гиппокампе. Отмечали протективный эффект пирибедила в отношении ослабления/исчезновения иммуноцитохимической реакции на NeuN в клетках гиппокампа и КБП. Наблюдала корригирующее влияние этого препарата на интенсивность пролиферации в основных нейрогенных зонах мозга. Возможный механизм влияния пирибедила на нейрогенез может быть обусловлен тем фактом, что D₃-рецепторы к дофамину имеются в достаточно большом количестве в основных нейрогенных зонах мозга, в частности, — в субвентрикулярной пролиферативной зоне, а также на поверхности различных типов клеток, связанных с процессами пролиферации в мозге, в т. ч. на поверхности НСК (O’Keeffe G. C. *et al.*, 2009; Kim Y. *et al.*, 2010; Veena J. *et al.*, 2011).

Оценка результатов проведённого нейрофармакологического анализа поведения и одновременно структурных изменений в мозге животных, подвергнутых острому витальному стрессу и получавших в постстрессовом периоде фармакологическую коррекцию, показала наличие положительного эффекта стимуляции D₂, D₃ дофаминовых рецепторов агонистом дофаминергической системы пирибедилом как в отношении поведенческих отклонений, так и морфофункциональных нарушений, вызванных психотравмирующим воздействием. Результаты применения дофаминомиметика пирибедила, выявленные в ходе коррекции состояния животных, могут свидетельствовать о снижении активности дофаминергической системы в использованной модели ПТСР на крысах.

Полученные в исследовании результаты позволяют соотнести изменения, наблюдавшиеся в мозге травмированных животных, с отклонениями, которые ре-

гистрировались в их поведении. Следует отметить, что постстрессовые нарушения поведения травмированных животных сохранялись в течение длительного времени и не имели тенденции к окончательной компенсации. Выявленные структурные и цитохимические изменения в мозге травмированных животных также сохранялись в течение длительного периода времени и, вероятно, носили необратимый характер, становясь причиной массовой гибели клеток мозга. Наблюдаемые гистологические изменения имели анатомическую специфичность и характеризовались развитием во времени. Нарушения, зарегистрированные в мозге, свидетельствуют о связи посттравматических поведенческих отклонений у экспериментальных животных с повреждением лимбической системы и гиппокампаально-гипоталамо-гипофизарных регуляторных механизмов, проявляющемся, в частности, диффузной клеточной гибелью и нарушением процессов восполнения клеточного состава мозга. Исходя из этого, длительно сохраняющийся поведенческий «дефект» у животных, подвергнутых воздействию витального стресса, можно объяснить наблюдаемыми, в т. ч. на позднем сроке после переживания психической травмы, структурными и цитохимическими изменениями в мозге, а также ослаблением естественной способности мозга к восполнению утраченных функций, в частности, — нарушением процессов нейрогенеза.

Таким образом, полученные данные позволяют утверждать, что структурные и функциональные нарушения в головном мозге, выявленные у крыс на разных сроках после воздействия витального стресса, вовлечены в развитие и длительное поддержание поведенческих нарушений, наблюдающихся у травмированных животных, и являются звеном патогенеза посттравматических стрессовых расстройств, а направленная стимуляция дофаминовых рецепторов (модуляция активности дофаминергической системы) мозга приводит к компенсации выявленных нарушений.

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 D_2 , D_3 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 пост-

стрессовом сроке наблюдения. При проведении фармакологической коррекции наблюдалась нормализация в той или иной степени 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-функциональные 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.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БДГ	фаза сна, сопровождающаяся быстрыми движениями глазных яблок;
ГГНС	гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система;
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота;
ИР	тест «Интрудер – резидент»;
КБП	кора больших полушарий головного мозга;
КПЛ	тест «Крестообразный приподнятый лабиринт»;
мРНК	матричная рибонуклеиновая кислота;
НСК	нейральные стволовые клетки;
ОП	тест «Открытое поле»;
ПОЛ	перекисное окисление липидов;
ПТСР	посттравматическое стрессовое расстройство;

РНК	рибонуклеиновая кислота;
СВЗ	субвентрикулярная пролиферативная зона латеральной стенки боковых желудочков мозга;
СОЯ	супраоптическое ядро гипоталамуса;
ФР	физиологический раствор;
ЦНС	центральная нервная система;
Ч	чистый;
ЧДА	чистый для анализа;
5-НТ ₁₋₇	(5-hydroxytryptamine) — подтипы рецепторов серотонина;
BDNF	(brain-derived neurotrophic factor) — мозговой нейротрофический фактор;
BrdU	(5-bromo-2'-deoxyuridine) — 5-бром-2'-дезоксиуридин;
CA1 – CA4	(cornu ammonis, греч.) — гистологические поля гиппокампа;
D ₁₋₅	(dopamine) — подтипы рецепторов дофамина;
DAB+	(3,3'-diaminobenzidine) — раствор 3,3'-диаминобензидина;
FSL	(Flinders sensitive line) — линия крыс с повышенной холинергической чувствительностью, модель депрессии на животных;
GABA	(γ -aminobutyric acid) — γ -аминомасляная кислота;
GABA _{A-C}	подтипы рецепторов γ -аминомасляной кислоты;
HRP	(horseradish peroxidase) — пероксидаза хрена;
NeuN	(neuronal nuclei) — нейронспецифичный ядерный белок;
NeuN ^{+/-}	NeuN-иммунопозитивные/иммунонегативные клетки;
NMDA	(N-methyl-D-aspartate) — N-метил-D-аспартат;
PCNA	(proliferating cell nuclear antigen) — ядерный антиген пролиферирующих клеток;
PCNA ^{+/-}	PCNA-иммунопозитивные/иммунонегативные клетки.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Августинovich Д. Ф., Алексеенко О. В., Бакштановская И. В. и др. Динамические изменения серотонергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: экспериментальное исследование // Успехи физиол. наук. — 2004. — Т. 35, № 4. — С. 19–40.
2. Августинovich Д. Ф., Коваленко И. Л., Корякина Л. А. Влияние однократного жестокого стресса на поведение самцов и самок мышей линий CBA/LAC и C57BL/6J // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2006. — Т. 92, № 5. — С. 567–577.
3. Аведисова А. С. Психофармакотерапия больных с посттравматическим стрессовым расстройством // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 2009. — Т. 109, № 12. — С. 46–49.
4. Авин А. И. Нарушение пространственной структуры биопотенциалов мозга при эндогенной депрессии. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1992. — 23 с.
5. Алексеева О. С., Коржевский Д. Э., Ветош А. Н., Косткин В. Б. Преадаптация к азотному наркозу и нарушение структуры коры головного мозга крыс при гипоксии // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. — 2010. — Т. 46, № 4. — С. 311–315.
6. Байчурина А. З., Семина И. И. Влияние нового соединения с антидепрессивной активностью темезина на плотность D₂ рецепторов в стриатуме крыс на модели «поведенческое отчаяние» // Тез. докл. Междунар. конф. «Нейрофармакология на рубеже двух тысячелетий», посвящ. 100-летию со дня рожд. акад. С. В. Аничкова (Санкт-Петербург, 6–8 октября 1992 г.). — СПб., 1992. — Ч. 1. — С. 15.
7. Вайдо А. И., Дюжикова Н. А., Ширяева Н. В. и др. Системный контроль молекулярно-клеточных и эпигенетических механизмов долгосрочных последствий стресса // Генетика. — 2009. — Т. 45, № 3. — С. 342–348.

8. Вальдман А. В., Звартау Э. Э., Козловская М. М. Психофармакология эмоций. — М.: Медицина, 1976. — 328 с.
9. Вартамян Г. А., Петров Е. С. Эмоции и поведение. — Л.: Наука, 1989. — 147 с.
10. Вартамян Г. А., Петров Е. С. Подкрепляющая функция эмоций // Журн. высш. нерв. деятельности им. И. П. Павлова. — 1992. — Т. 42, № 5. — С. 843–853.
11. Вельтищев Д. Ю. Острые стрессовые расстройства: факторы прогноза и профилактики затяжного течения // Соц. и клин. психиатрия. — 2010. — Т. 20, № 2. — С. 48–51.
12. Грачева Л. В. Психическая дезадаптация лиц с субклиническими нервно-психическими расстройствами в отдаленном периоде пережитого боевого посттравматического стрессового расстройства // Личность в экстрем. условиях и кризис. ситуациях жизнедеятельности. — 2012. — № 2. — С. 139–144.
13. Епифанова О. И., Терских В. В., Захаров А. Ф. Радиоавтография. — М.: Высшая школа, 1977. — 246 с.
14. Звартау Э. Э. Реакция самостимуляции гипоталамуса при однократном и повторном введении этаминал-натрия // Журн. фармакологии и токсикологии. — 1983. — Т. 66, № 2. — С. 28–31.
15. Звартау Э. Э. Методология изучения наркотоксикоманий // Итоги науки и техники. Сер. «Наркология». — М.: ВИНТИ, 1988. — Т. 1. — С. 1–166.
16. Ивонин А. А., Цицерошин М. Н., Куценко Д. О. и др. Особенности нарушений процессов межкорковой и корково-подкорковой интеграции при различных клинических проявлениях невротической депрессии // Физиология человека. — 2008. — Т. 34, № 6. — С. 10–22.
17. Изнак А. Ф. Нарушения структурно-функциональной организации головного мозга при шизофрении // Психиатрия. — 2008. — Т. 33, № 3. — С. 25–31.
18. Кирик О. В., Сухорукова Е. Г., Власов Т. Д., Коржевский Д. Э. Селективная гибель нейронов стриатума крысы после транзиторной окклюзии средней мозговой артерии // Морфология. — 2009. — Т. 135, № 2. — С. 80–82.

19. Коржевский Д. Э. Пролиферативные зоны в эпителии сосудистых сплетений головного мозга эмбриона человека // *Морфология*. — 1999. — Т. 115, № 3. — С. 38–41.
20. Коржевский Д. Э. Использование моноклональных антител к ядерному белку PCNA для выявления пролиферирующих клеток в развивающемся головном мозге эмбриона человека // *Морфология*. — 2000. — Т. 118, № 5. — С. 68–70.
21. Коржевский Д. Э., Кирик О. В. Покрытие предметных стекол для проведения иммуноцитохимических и гистологических исследований: Патент на изобретение № 2386137 RU; заявл. 29.07.2008; опубл. 10.04.2010.
22. Коржевский Д. Э., Григорьев И. П., Отеллин В. А. Применение обезвоживающих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях // *Морфология*. — 2006а. — Т. 129, № 1. — С. 85–86.
23. Коржевский Д. Э., Хожай Л. И., Гилерович Е. Г. и др. Современные морфологические методы оценки деструктивных процессов, развивающихся в головном мозге в ответ на повреждающие воздействия // *Мат-лы Всерос. конф. с междунар. участ. «Структурно-функциональные и нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга» (Москва, 26–27 октября 2006 г.) / Под общ. ред. Р. М. Худоеркова; ред. Ф. С. Сатанова. — М.: ИЗПЦ «Информкнига», 2006б. — С. 139–143.*
24. Коржевский Д. Э., Петрова Е. С., Кирик О. В., Отеллин В. А. Оценка дифференцировки нейронов в эмбриогенезе крысы с использованием иммуноцитохимического выявления даблкортина // *Морфология*. — 2008. — Т. 133, № 4. — С. 7–10.
25. Коржевский Д. Э., Петрова Е. С., Кирик О. В. и др. Нейральные маркеры, используемые при изучении дифференцировки стволовых клеток // *Клет. трансплантология и ткан. инженерия*. — 2010. — Т. 5, № 3. — С. 57–63.
26. Коржевский Д. Э., Кирик О. В., Карпенко М. Н. и др. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: Руководство / Под ред. Д. Э. Коржевского. — СПб.: СпецЛит, 2012. — 116 с.

27. Кудинова Е. В. Структурно-функциональные изменения гиппокампа при стресс-синдроме и их коррекция методом биорезонансной терапии. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Тюмень, 2004. — 18 с.
28. Кудрявцева Н. Н., Бакштановская И. В. Нейрохимический контроль агрессии и подчинения // Журн. высш. нерв. деятельности им. И. П. Павлова. — 1991. — Т. 41, № 3. — С. 459–465.
29. Кусов А. Г. Механизмы формирования депрессивноподобных состояний у крыс в результате психогенной травмы. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 2006. — 22 с.
30. Литвицкий П. Ф. Патологическая физиология: Учебник: В 2 т. — 2-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. — Т. 1. — С. 664.
31. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, 10 пересмотр: МКБ-10. — Женева: ВОЗ, 1995.
32. Миронов А. А., Чкалов А. В. Комплексное изучение поведения крыс в тесте «открытое поле» // Научные труды I Съезда физиологов СНГ / Под ред. Р. И. Сепиашвили. — М.: Медицина – Здоровье, 2005. — Т. 1. — С. 213.
33. Мосолов С. Н. Клиническое применение современных антидепрессантов. — СПб.: Мед. инф. агентство, 1995. — 566 с.
34. Мосолов С. Н. Тревога и депрессия: проблемы диагностики и терапии // Психофармакотерапия депрессий. — 2005. — № 4. — С. 1–15.
35. Ноздрачев А. Д., Баженов Ю. И., Баранникова И. А. и др. Начала физиологии: Учебник для вузов / Ред. А. Д. Ноздрачев. — Изд. 2-е, испр. — СПб.: Лань, 2002. — 1088 с.
36. Нуллер Ю. Л., Михаленко И. Н. Аффективные психозы. — Л.: Медицина, 1988. — 264 с.
37. Омельченко Н. В., Коржевский Д. Э., Смирнов Е. Б., Петрова Е. С. Ядрышковый аппарат пролиферирующих и дифференцирующихся клеток неокортекса эмбриона человека в период формирования кортикальной пластинки // Морфология. — 1998. — Т. 113, № 2. — С. 53–57.

38. Патологическая физиология: Учебник для мед. институтов / Ред. Н. Н. Зайко и др. — Элиста, 1994. — 574 с.
39. Петров Е. С. Центральные механизмы эмоционального поведения в норме и в условиях внутривидовой депривации. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Л., 1988. — 35 с.
40. Польшин В. В. Влияние температуры внешней среды на частоту самостимуляции и возникновения судорог у белых крыс // Журн. высш. нерв. деятельности им. И. П. Павлова. — 1985. — Т. 35, № 2. — С. 176–177.
41. Поляков Е. Л., Ячменева Е. Ю. Электрическая стимуляция вознаграждающих систем мозга: Библиографический указатель, 1954–1979 гг. — Л.: Изд-во АН СССР, Ин-т физиологии им. И. П. Павлова, 1981. — 213 с.
42. Пошивалов В. П. Экспериментальная психофармакология агрессивного поведения. — Л.: Наука, 1986. — 200 с.
43. Пронина Т. С., Калас А., Угрюмов М. В. Влияние серотонина на образование нейронов, продуцирующих гонадотропин-рилизинг гормон, у крыс Wistar // Онтогенез. — 2010. — Т. 41, № 1. — С. 41–46.
44. Пшеничная А. Г., Безнин Г. В., Кусов А. Г. и др. Вовлечённость моноаминовых систем мозга в формирование посттравматического стрессового расстройства // 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.
45. Пятибрат Е. Д., Цикунов С. Г., Гордиенко А. В. и др. Анализ нарушений обменных процессов у сотрудников МВД с психосоматическими расстройствами в отдаленном периоде после участия в боевых действиях // Мед. вестн. МВД. — 2012. — Т. LVI, № 1. — С. 54–56.
46. Раевский К. С. Нейрохимическая стратегия поиска изучения механизма действия антипсихотических веществ как модуляторов дофаминергической передачи // Нейрофармакология на рубеже двух тысячелетий / Под ред. Н. С. Сапронова. — СПб., 1992. — С. 182.

47. Раевский К. С., Сотникова Т. Д., Гайнетдинов Р. Р. Дофаминергические системы мозга: рецепторная гетерогенность, функциональная роль, фармакологическая регуляция // Успехи физиол. наук. — 1996. — Т. 27, № 4. — С. 3–29.
48. Саркисова К. Ю., Фоломкина А. А. Влияние селективного ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина на симптомы депрессивноподобного поведения у крыс линии WAG/Rij // Журн. высш. нерв. деятельности им. И. П. Павлова. — 2010. — Т. 60, № 1. — С. 98–108.
49. Селье Г. Стресс без дистресса. — М.: Прогресс, 1982. — 128 с.
50. Слабинский В. Ю. Современные подходы к психотерапии посттравматического стрессового расстройства // Мед.-биол. и соц.-психол. проблемы безопасности в чрезв. ситуациях. — 2012. — № 1. — С. 89–97.
51. Талалаенко А. Н. О нейрохимических механизмах самостимуляции // Успехи физиол. наук. — 1984. — Т. 20, № 2. — С. 46–74.
52. Талалаенко А. Н., Борейша И. К. О соотношении дофамин- и ГАМК-ергических механизмов в угнетающем влиянии нейролептиков на pedalную самостимуляцию вентральной покрышки среднего мозга // Журн. фармакологии и токсикологии. — 1983. — Т. 46, № 2. — С. 36–39.
53. Тарабрина Н. В. Практикум по психологии посттравматического стресса. — СПб.: Питер, 2001. — 272 с.
54. Тарабрина Н. В. Психология посттравматического стресса: интегративный подход. Автореф. дис. ... д-ра психол. наук. — СПб., 2008. — 69 с.
55. Тимошенко Т. В. Модуляция нейрогенеза у мышей и крыс разных генотипов. Анализ поведения. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2009. — 23 с.
56. Тишкина А. О., Левшина И. П., Лазарева Н. А. и др. Хронический стресс вызывает неапоптотическую гибель нейронов в гиппокампе крыс // Докл. АН. — 2009. — Т. 428, № 1. — С. 130–134.
57. Трофимова Л. К., Суворова И. А., Маслова М. В. и др. Влияние однократного иммобилизационного стресса на метаболизм ГАМК и поведение беременных и небеременных самок крыс в раннем постстрессорном периоде // Нейрохимия. — 2009. — Т. 26, № 3. — С. 220–224.

58. Угрюмов М. В. Эндокринные функции мозга у взрослых млекопитающих и в онтогенезе // Онтогенез. — 2009. — Т. 40, № 1. — С. 19–29.
59. Упоров А. В. Активность пролиферации и ядрышковых организаторов клеток рака молочной железы как показатель биологического поведения опухоли. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 1998. — 179 с.
60. Упоров А. В., Цырлина Е. В., Семиглазов В. Ф., Пожарисский К. М. Определение пролиферативной активности клеток рака молочной железы с использованием введения 5-бром-2'-дезоксифлуоридина *in vivo* // Вопр. онкологии. — 1997. — Т. 43, № 2. — С. 176–182.
61. Ушаков И. Б., Бубеев Ю. А., Квасовец С. В., Иванов А. В. Индивидуальные психофизиологические механизмы адаптации при стрессе смертельно опасных ситуаций // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2012. — Т. 98, № 1. — С. 83–94.
62. Флёров М. А., Вьюшина А. В. Свободнорадикальное окисление липидов в гипоталамусе крыс при стрессе после введения кортизола // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2011. — Т. 97, № 9. — С. 898–902.
63. Хамилтон Л. У. Основы анатомии лимбической системы крысы. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1985. — 184 с.
64. Хожай Л. И. Серотонин как регулятор дифференцировки пирамидных нейронов глубоких слоев коры мозга эмбрионов мыши // Мат-лы Всерос. науч. конф. с междунар. участ., посвящ. 150-летию со дня рожд. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, 15–17 сентября 1999 г.). — СПб., 1999. — С. 314.
65. Цикунов С. Г., Макарова Т. М., Кусов А. Г., Шабаев В. В. Влияние «чистой» психогенной травмы на структуру эмоционального поведения крыс // Мат-лы Науч. конф. «Актуальные проблемы фундаментальных исследований в области биологии и медицины», посвящ. 110-летию со дня осн. Института экспериментальной медицины (Санкт-Петербург, 18–20 декабря 2000 г.). — СПб.: Наука, 2000. — С. 184–185.

66. Цикунов С. Г., Клименко В. М., Кусов А. Г. и др. Изменение липидов плазмы крови и депрессия поведения крыс в отставленном периоде острой психической травмы // Липиды, мембраны. — СПб.: ВМедА, 2002. — С. 127–128.
67. Цикунов С. Г., Кусов А. Г., Пшеничная А. Г. и др. Модель посттравматического стрессового расстройства у крыс // Мат-лы IV Всерос. конф. с междунар. участ., посвящ. 80-летию Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 4–6 октября 2005 г.). — СПб., 2005а. — С. 261–262.
68. Цикунов С. Г., Пшеничная А. Г., Кусов А. Г. и др. Депрессивноподобные расстройства у самок крыс в результате психической травмы // Мат-лы IV Всерос. конф. с междунар. участ., посвящ. 80-летию Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 4–6 октября 2005 г.). — СПб., 2005б. — С. 262–263.
69. Цикунов С. Г., Клюева Н. Н., Кусов А. Г. и др. Изменения липидного спектра сыворотки крови и печени крыс, вызванные тяжелой психогенной травмой // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2006. — Т. 141, № 5. — С. 575–578.
70. Цикунов С. Г., Пятибрат Е. Д., Гордиенко А. В., Бацков С. С. Психофизиологическая оценка патохарактерологических нарушений после перенесенного витального стресса // Мед.-биол. и соц.-психол. проблемы безопасности в чрезв. ситуациях. — 2012а. — № 1. — С. 39–43.
71. Цикунов С. Г., Пятибрат Е. Д., Гордиенко А. В. и др. Особенности изменения спектра липидов в отдаленном периоде витального стресса в эксперименте на животных и у людей // Вестник СПбГУ / Сер. 11: Медицина. — 2012б. — № 2. — С. 155–160.
72. Чепурнов С. А., Чепурнова Н. Е. Нейропептиды и миндалина. — М.: Изд-во МГУ, 1985. — 128 с.
73. Чернышева М. П. Гормоны животных. Введение в физиологическую эндокринологию. — СПб.: Глагол, 1995. — 296 с.
74. Шабанов П. Д., Ноздрачев А. Д., Лебедев А. А., Лебедев В. А. Нейрохимическая организация подкрепляющих систем мозга // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2000. — Т. 86, № 8. — С. 935–945.

75. Шабанов П. Д., Лебедев А. А., Мещеров Ш. К. Дофамин и подкрепляющие системы мозга. — СПб.: Лань, 2002. — 208 с.
76. Шадрина И. В., Дедова К. Н., Пугачёв А. Н. Нейрофизиологические особенности работы головного мозга (по результатам анализа показателей ЭЭГ) и их влияние на психологические характеристики у пациентов с посттравматическим стрессовым расстройством // Вестн. ЮУрГУ. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. — 2011. — № 7 (224). — С. 84–86.
77. Шишкина Г. Т., Дыгало Н. Н. Нейробиологические основы депрессивных расстройств и действия антидепрессантов // Журн. высш. нерв. деятельности им. И. П. Павлова. — 2010. — Т. 60, № 2. — С. 138–152.
78. Эллиниди В. Н., Анিকেева Н. В., Максимова Н. А. Практическая иммуногистохимия. — СПб.: ВЦЭРМ МЧС России, 2002. — 36 с.
79. Ярыгин К. Н., Ярыгин В. Н. Нейрогенез в центральной нервной системе и перспективы регенеративной неврологии // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 2012. — Т. 112, № 1. — С. 4–13.
80. Abramets I. I., Kuznetsov Yu. V., Samoilovich I. M. Changes of properties of glutamatergic synapses in the hippocampus of rats with behavioral depression and modeling of the changes *in vitro* // Neurophysiology. — 2001. — Vol. 33, No 5. — PP. 335–345.
81. Abrous D. N., Koehl M., Le Moal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology // Physiol. Rev. — 2005. — Vol. 85, No 2. — PP. 523–569.
82. Adamec R., Holmes A., Blundell J. Vulnerability to lasting anxiogenic effects of brief exposure to predator stimuli: sex, serotonin and other factors-relevance to PTSD // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2008. — Vol. 32, No 7. — PP. 1287–1292.
83. Afifi T. O., Asmundson G. J., Taylor S., Jang K. L. The role of genes and environment on trauma exposure and posttraumatic stress disorder symptoms: a review of twin studies // Clin. Psychol. Rev. — 2010. — Vol. 30, No 1. — PP. 101–112.

84. Alfarez D. N., Wiegert O., Krugers H. J. Stress, corticosteroid hormones and hippocampal synaptic function // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. — 2006. — Vol. 5, No 5. — PP. 521–529.
85. Amstadter A. B., Nugent N. R., Koenen K. C. Genetics of PTSD: fear conditioning as a model for future research // *Psychiatr. Ann.* — 2009. — Vol. 39, No 6. — PP. 358–367.
86. Amstadter A. B., Nugent N. R., Yang B. Z. *et al.* Corticotrophin-releasing hormone type 1 receptor gene (*CRHR1*) variants predict posttraumatic stress disorder onset and course in pediatric injury patients // *Dis. Markers*. — 2011. — Vol. 30, Nos 2–3. — PP. 89–99.
87. Arango C., Kirkpatrick B., Koenig J. At issue: stress, hippocampal neuronal turnover, and neuropsychiatric disorders // *Schizophr. Bull.* — 2001. — Vol. 27, No 3. — PP. 477–480.
88. Arsenijevic Y., Villemure J. G., Brunet J. F. *et al.* Isolation of multipotent neural precursors residing in the cortex of the adult human brain // *Exp. Neurol.* — 2001. — Vol. 170, No 1. — PP. 48–62.
89. Azorin J. M., Kaladjian A., Fakra E. *et al.* Gene-environment interactions in affective disorders (Article in French) // *Encephale*. — 2010. — Vol. 36, Suppl. 6. — PP. S167–S172.
90. Bachmann A. W., Sedgley T. L., Jackson R. V. Glucocorticoid receptor polymorphisms and post-traumatic stress disorder // *Psychoneuroendocrinology*. — 2005. — Vol. 30, No 3. — PP. 297–306.
91. Bar M. A cognitive neuroscience hypothesis of mood and depression // *Trends Cogn. Sci.* — 2009. — Vol. 13, No 11. — PP. 456–463.
92. Barden N. Implication of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the physiopathology of depression // *J. Psychiatry Neurosci.* — 2004. — Vol. 29, No 3. — PP. 185–193.
93. Benight C. C., Harper M. L. Coping self-efficacy perceptions as a mediator between acute stress response and long-term distress following natural disasters // *J. Trauma. Stress.* — 2002. — Vol. 15, No 3. — PP. 177–186.

94. Boldrini M., Arango V. Antidepressants, age, and neuroprogenitors // *Neuropsychopharmacology*. — 2010. — Vol. 35, No 1. — PP. 351–352.
95. Bravo R., Fey S. J., Bellatin J. *et al.* Identification of a nuclear and of a cytoplasmic polypeptide whose relative proportions are sensitive to changes in the rate of cell proliferation // *Exp. Cell Res.* — 1981. — Vol. 136, No 2. — PP. 311–319.
96. Bravo R., Macdonald-Bravo H. Changes in the nuclear distribution of cyclin (PCNA) but not its synthesis depend on DNA replication // *EMBO J.* — 1985. — Vol. 4, No 3. — PP. 655–661.
97. Bravo R., Macdonald-Bravo H. Existence of two populations of cyclin/proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: association with DNA replication sites // *J. Cell Biol.* — 1987. — Vol. 105, No 4. — PP. 1549–1554.
98. Bremner J. D. The relationship between cognitive and brain changes in posttraumatic stress disorder // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2006a. — Vol. 1071. — PP. 80–86.
99. Bremner J. D. Traumatic stress: effects on the brain // *Dialogues Clin. Neurosci.* — 2006b. — Vol. 8, No 4. — PP. 445–461.
100. Bremner J. D., Narayan M., Anderson E. R. *et al.* Hippocampal volume reduction in major depression // *Am. J. Psychiatry*. — 2000. — Vol. 157, No 1. — PP. 115–117.
101. Broekman B. F., Olf M., Boer F. The genetic background to PTSD // *Neurosci. Biobehav. Rev.* — 2007. — Vol. 31, No 3. — PP. 348–362.
102. Brown E. S., John Rush A., McEwen B. S. Hippocampal remodeling and damage by corticosteroids: implications for mood disorders // *Neuropsychopharmacology*. — 1999. — Vol. 21, No 4. — PP. 474–484.
103. Brummelte S., Galea L. A. Chronic high corticosterone reduces neurogenesis in the dentate gyrus of adult male and female rats // *Neuroscience*. — 2010. — Vol. 168, No 3. — PP. 680–690.
104. Butler T. R., Self R. L., Smith K. J. *et al.* Selective vulnerability of hippocampal cornu ammonis 1 pyramidal cells to excitotoxic insult is associated with the expression of polyamine-sensitive *N*-methyl-D-aspartate-type glutamate receptors // *Neuroscience*. — 2010. — Vol. 165, No 2. — PP. 525–534.

105. Campbell S., MacQueen G. The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression // *J. Psychiatry Neurosci.* — 2004. — Vol. 29, No 6. — PP. 417–426.
106. Cannistraro P. A., Rauch S. L. Neural circuitry of anxiety: evidence from structural and functional neuroimaging studies // *Psychopharmacol. Bull.* — 2003. — Vol. 37, No 4. — PP. 8–25.
107. Cannon J. R., Greenamyre J. T. NeuN is not a reliable marker of dopamine neurons in rat *substantia nigra* // *Neurosci. Lett.* — 2009. — Vol. 464, No 1. — PP. 14–17.
108. Cannon W. B. *The wisdom of the body.* — N. Y.: W. W. Norton, 1932. — 312 pp.
109. Cárdenas A., Moro M. A., Hurtado O. *et al.* Dual role of nitric oxide in adult neurogenesis // *Brain Res. Brain Res. Rev.* — 2005. — Vol. 50, No 1. — PP. 1–6.
110. Castro J. E., Varea E., Márquez C. *et al.* Role of the amygdala in antidepressant effects on hippocampal cell proliferation and survival and on depression-like behavior in the rat // *PLoS One.* — 2010. — Vol. 5, Iss. 1. — e8618.
111. Celis J. E., Madsen P. Increased nuclear cyclin/PCNA antigen staining of non S-phase transformed human amnion cells engaged in nucleotide excision DNA repair // *FEBS Lett.* — 1986. — Vol. 209, No 2. — PP. 277–283.
112. Charney D. S. Psychobiological mechanisms of resilience and vulnerability: implications for successful adaptation to extreme stress // *Am. J. Psychiatry.* — 2004. — Vol. 161, No 2. — PP. 195–216.
113. Charney D. S., Drevets W. C. Neurobiological basis of anxiety disorders / In: *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress* / Eds K. L. Davis *et al.* — Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2002. — P. 918.
114. Chertkow-Deutsher Y., Cohen H., Klein E., Ben-Shachar D. DNA methylation in vulnerability to post-traumatic stress in rats: evidence for the role of the post-synaptic density protein *Dlgap2* // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* — 2010. — Vol. 13, No 3. — PP. 347–359.
115. Chichinadze K. Neuromediator regulation of aggressive behavior // *Ann. Biomed. Res. Edu.* — 2002. — Vol. 2, Iss. 3. — PP. 267–270.

116. Cintra A., Zoli M., Rosén L. *et al.* Mapping and computer assisted morphometry and microdensitometry of glucocorticoid receptor immunoreactive neurons and glial cells in the rat central nervous system // *Neuroscience*. — 1994. — Vol. 62, No 3. — PP. 843–897.
117. Conrad C. D. What is the functional significance of chronic stress-induced CA3 dendritic retraction within the hippocampus? // *Behav. Cogn. Neurosci. Rev.* — 2006. — Vol. 5, No 1. — PP. 41–60.
118. Conrad C. D., LeDoux J. E., Magariños A. M., McEwen B. S. Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy // *Behav. Neurosci.* — 1999. — Vol. 113, No 5. — PP. 902–913.
119. Conrad C. D., McLaughlin K. J., Harman J. S. *et al.* Chronic glucocorticoids increase hippocampal vulnerability to neurotoxicity under conditions that produce CA3 dendritic retraction but fail to impair spatial recognition memory // *J. Neurosci.* — 2007. — Vol. 27, No 31. — PP. 8278–8285.
120. Contestabile A. Roles of NMDA receptor activity and nitric oxide production in brain development // *Brain Res. Brain Res. Rev.* — 2000. — Vol. 32, Nos 2–3. — PP. 476–509.
121. Contestabile A. Regulation of transcription factors by nitric oxide in neurons and in neural-derived tumor cells // *Prog. Neurobiol.* — 2008. — Vol. 84, No 4. — PP. 317–328.
122. Coupland N. J., Nutt D. J. Neurobiology of anxiety and panic / In: *Cholecystokinin and Anxiety: from Neuron to Behavior* / Eds J. Bradwein, E. Vasar. — N. Y.: Springer-Verlag, 1995. — PP. 1–32.
123. Cox L. S. Who binds wins: competition for PCNA rings out cell-cycle changes // *Trends Cell Biol.* — 1997. — Vol. 7, No 12. — PP. 493–498.
124. Czéh B., Michaelis T., Watanabe T. *et al.* Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98, No 22. — PP. 12796–12801.

125. Czéh B., Welt T., Fischer A. K. *et al.* Chronic psychosocial stress and concomitant repetitive transcranial magnetic stimulation: effects on stress hormone levels and adult hippocampal neurogenesis // *Biol. Psychiatry*. — 2002. — Vol. 52, No 11. — PP. 1057–1065.
126. Czéh B., Müller-Keuker J. I., Rygula R. *et al.* Chronic social stress inhibits cell proliferation in the adult medial prefrontal cortex: hemispheric asymmetry and reversal by fluoxetine treatment // *Neuropsychopharmacology*. — 2007. — Vol. 32, No 7. — PP. 1490–1503.
127. Davidson J. R., Tupler L. A., Wilson W. H., Connor K. M. A family study of chronic post-traumatic stress disorder following rape trauma // *J. Psychiatr. Res.* — 1998. — Vol. 32, No 5. — PP. 301–309.
128. Davis L. L., Suris A., Lambert M. T. *et al.* Post-traumatic stress disorder and serotonin: new directions for research and treatment // *J. Psychiatry Neurosci.* — 1997. — Vol. 22, No 5. — PP. 318–326.
129. de Kloet E. R. Stress in the brain // *Eur. J. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 405, Nos 1–3. — PP. 187–198.
130. Dell’osso L., Carmassi C., Del Debbio A. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor plasma levels in patients suffering from post-traumatic stress disorder // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. — 2009. — Vol. 33, No 5. — PP. 899–902.
131. Depression / NIH Publication No 11-3561. — National Institute of Mental Health, 2011. — 25 pp.
132. Deuschle M., Schweiger U., Weber B. *et al.* Diurnal activity and pulsatility of the hypothalamus-pituitary-adrenal system in male depressed patients and healthy controls // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1997. — Vol. 82, No 1. — PP. 234–238.
133. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, Fifth Edition: DSM-5. — Washington, DC: American Psychiatric Association, 2013. — 968 pp.
134. Dranovsky A., Hen R. Hippocampal neurogenesis: regulation by stress and antidepressants // *Biol. Psychiatry*. — 2006. — Vol. 59, No 12. — PP. 1136–1143.
135. Drevets W. C., Frank E., Price J. C. *et al.* PET imaging of serotonin $1A$ receptor binding in depression // *Biol. Psychiatry*. — 1999. — Vol. 46, No 10. — PP. 1375–1387.

136. Drury S. S., Theall K. P., Keats B. J., Scheeringa M. The role of the dopamine transporter (DAT) in the development of PTSD in preschool children // *J. Trauma. Stress.* — 2009. — Vol. 22, No 6. — PP. 534–539.
137. Dubrovsky B. Effects of adrenal cortex hormones on limbic structures: some experimental and clinical correlations related to depression // *J. Psychiatry Neurosci.* — 1993. — Vol. 18, No 1. — PP. 4–16.
138. Ehlert U., Wagner D., Heinrichs M., Heim C. Psychobiological aspects of post-traumatic stress disorder (Article in German) // *Nervenarzt.* — 1999. — Vol. 70, No 9. — PP. 773–779.
139. Eker C., Gonul A. S. Volumetric MRI studies of the hippocampus in major depressive disorder: meanings of inconsistency and directions for future research // *World J. Biol. Psychiatry.* — 2010. — Vol. 11, No 1. — PP. 19–35.
140. Elder G. A., De Gasperi R., Gama Sosa M. A. Research update: neurogenesis in adult brain and neuropsychiatric disorders // *Mt Sinai J. Med.* — 2006. — Vol. 73, No 7. — PP. 931–940.
141. Encinas J. M., Vaahtokari A., Enikolopov G. Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol. 103, No 21. — PP. 8233–8238.
142. Estrada C., Murillo-Carretero M. Nitric oxide and adult neurogenesis in health and disease // *Neuroscientist.* — 2005. — Vol. 11, No 4. — PP. 294–307.
143. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // *European Treaty Series, No 123.* — Strasbourg, 1986.
144. Filipkowski R. K., Kiryk A., Kowalczyk A., Kaczmarek L. Genetic models to study adult neurogenesis // *Acta Biochim. Pol.* — 2005. — Vol. 52, No 2. — PP. 359–372.
145. Frančišković T., Suković Z., Janović S. *et al.* Tianeptine in the combined treatment of combat related posttraumatic stress disorder // *Psychiatr. Danub.* — 2011. — Vol. 23, No 3. — PP. 257–263.

146. Friese A., Kaltschmidt J. A., Ladle D. R. *et al.* Gamma and alpha motor neurons distinguished by expression of transcription factor *Err3* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106, No 32. — PP. 13588–13593.
147. Gary R., Ludwig D. L., Cornelius H. L. *et al.* The DNA repair endonuclease XPR binds to proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and shares sequence elements with the PCNA-binding region of FEN-1 and cyclin-dependent kinase inhibitor p21 // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272, No 39. — PP. 24522–24529.
148. Gartside S. E., Leitch M. M, Young A. H. Altered glucocorticoid rhythm attenuates the ability of a chronic SSRI to elevate forebrain 5-HT: implications for the treatment of depression // *Neuropsychopharmacology.* — 2003. — Vol. 28, No 9. — PP. 1572–1578.
149. Geraciotti T. D. Jr, Baker D. G., Ekhaton N. N. *et al.* CSF norepinephrine concentrations in posttraumatic stress disorder // *Am. J. Psychiatry.* — 2001. — Vol. 158, No 8. — PP. 1227–1230.
150. Geuze E., van Berckel B. N., Lammertsma A. A. *et al.* Reduced GABA_A benzodiazepine receptor binding in veterans with post-traumatic stress disorder // *Mol. Psychiatry.* — 2008a. — Vol. 13, No 1. — PP. 74–83.
151. Geuze E., Westenberg H. G., Heinecke A. *et al.* Thinner prefrontal cortex in veterans with posttraumatic stress disorder // *Neuroimage.* — 2008b. — Vol. 41, No 3. — PP. 675–681.
152. Gibbs S. M. Regulation of neuronal proliferation and differentiation by nitric oxide // *Mol. Neurobiol.* — 2003. — Vol. 27, No 2. — PP. 107–120.
153. Gold P. W., Drevets W. C., Charney D. S. New insights into the role of cortisol and the glucocorticoid receptor in severe depression // *Biol. Psychiatry.* — 2002. — Vol. 52, No 5. — PP. 381–385.
154. Gorman J. M., Docherty J. P. A hypothesized role for dendritic remodeling in the etiology of mood and anxiety disorders // *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* — 2010. — Vol. 22, No 3. — PP. 256–264.

155. Gould E., McEwen B. S., Tanapat P. *et al.* Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation // *J. Neurosci.* — 1997. — Vol. 17, No 7. — PP. 2492–2498.
156. Gould E., Tanapat P., McEwen B. S. *et al.* Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* — 1998. — Vol. 95, No 6. — PP. 3168–3171.
157. Gould E., Reeves A. J., Graziano M. S., Gross C. G. Neurogenesis in the neocortex of adult primates // *Science.* — 1999. — Vol. 286, No 5439. — PP. 548–552.
158. Graef F. G. Biological basis of posttraumatic stress disorder (Article in Portuguese) // *Rev. Bras. Psiquiatr.* — 2003. — Vol. 25, Suppl. 1. — PP. 21–24.
159. Grant E. C., Mackintosh J. H. A comparison of the social postures of some common laboratory rodents // *Behaviour.* — 1963. — Vol. 21, Nos 3–4. — PP. 246–259.
160. Gratzner H. G. Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication // *Science.* — 1982. — Vol. 218, No 4571. — PP. 474–475.
161. Hall C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality // *J. Comp. Physiol. Psychol.* — 1934. — Vol. 18, Iss. 3. — PP. 385–403.
162. Hall P. A., Kearsley J. M., Coates P. J. *et al.* Characterization of the interaction between PCNA and Gadd45 // *Oncogene.* — 1995. — Vol. 10, No 12. — PP. 2427–2433.
163. Hamilton J. P., Siemer M., Gotlib I. H. Amygdala volume in major depressive disorder: a meta-analysis of magnetic resonance imaging studies // *Mol. Psychiatry.* — 2008. — Vol. 13, No 11. — PP. 993–1000.
164. Hamner M. B., Diamond B. I. Elevated plasma dopamine in posttraumatic stress disorder: a preliminary report // *Biol. Psychiatry.* — 1993. — Vol. 33, No 4. — PP. 304–306.
165. Heim C., Nemeroff C. B. Neurobiology of posttraumatic stress disorder // *CNS Spectr.* — 2009. — Vol. 14, No 1, Suppl. 1. — PP. 13–24.

166. Henn F. A., Vollmayr B. Neurogenesis and depression: etiology or epiphenomenon? // *Biol. Psychiatry*. — 2004. — Vol. 56, No 3. — PP. 146–150.
167. Ho Y. C., Wang S. Adult neurogenesis is reduced in the dorsal hippocampus of rats displaying learned helplessness behavior // *Neuroscience*. — 2010. — Vol. 171, No 1. — PP. 153–161.
168. Hovatta I., Juhila J., Donner J. Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders // *Neurosci. Res.* — 2010. — Vol. 68, No 4. — PP. 261–275.
169. Hull A. M. Neuroimaging findings in post-traumatic stress disorder // *Br. J. Psychiatry*. — 2002. — Vol. 181. — PP. 102–110.
170. Hunt J., Cheng A., Hoyles A. *et al.* Cyclosporin A has direct effects on adult neural precursor cells // *J. Neurosci.* — 2010. — Vol. 30, No 8. — PP. 2888–2896.
171. Imanaka A., Morinobu S., Toki S., Yamawaki S. Importance of early environment in the development of post-traumatic stress disorder-like behaviors // *Behav. Brain Res.* — 2006. — Vol. 173, No 1. — PP. 129–137.
172. Jayatissa M. N., Henningsen K., Nikolajsen G. *et al.* A reduced number of hippocampal granule cells does not associate with an anhedonia-like phenotype in a rat chronic mild stress model of depression // *Stress*. — 2010. — Vol. 13, No 2. — PP. 95–105.
173. Jhaveri D. J., Mackay E. W., Hamlin A. S. *et al.* Norepinephrine directly activates adult hippocampal precursors via β_3 -adrenergic receptors // *J. Neurosci.* — 2010. — Vol. 30, No 7. — PP. 2795–2806.
174. Jin K., Xie L., Kim S. H. *et al.* Defective adult neurogenesis in CB1 cannabinoid receptor knockout mice // *Mol. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 66, No 2. — PP. 204–208.
175. Joca S. R., Ferreira F. R., Guimarães F. S. Modulation of stress consequences by hippocampal monoaminergic, glutamatergic and nitrenergic neurotransmitter systems // *Stress*. — 2007. — Vol. 10, No 3. — PP. 227–249.
176. Jovanovic T., Ressler K. J. How the neurocircuitry and genetics of fear inhibition may inform our understanding of PTSD // *Am. J. Psychiatry*. — 2010. — Vol. 167, No 6. — PP. 648–662.

177. Jun H., Mohammed Qasim Hussaini S., Rigby M. J., Jang M. H. Functional role of adult hippocampal neurogenesis as a therapeutic strategy for mental disorders // *Neural Plast.* — 2012. — Vol. 2012, Art. ID 854285. — 20 pp.
178. Karl A., Schaefer M., Malta L. S. *et al.* A meta-analysis of structural brain abnormalities in PTSD // *Neurosci. Biobehav. Rev.* — 2006. — Vol. 30, No 7. — PP. 1004–1031.
179. Kelman Z. PCNA: structure, functions and interactions // *Oncogene.* — 1997. — Vol. 14, No 6. — PP. 629–640.
180. Kennedy S. E., Koeppe R. A., Young E. A., Zubieta J. K. Dysregulation of endogenous opioid emotion regulation circuitry in major depression in women // *Arch. Gen. Psychiatry.* — 2006. — Vol. 63, No 11. — PP. 1199–1208.
181. Kesner Y., Zohar J., Merenlender A. *et al.* *WFS1* gene as a putative biomarker for development of post-traumatic syndrome in an animal model // *Mol. Psychiatry.* — 2009. — Vol. 14, No 1. — PP. 86–94.
182. Kim K. K., Adelstein R. S., Kawamoto S. Identification of neuronal nuclei (NeuN) as Fox-3, a new member of the Fox-1 gene family of splicing factors // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284, No 45. — PP. 31052–31061.
183. Kim Y., Wang W. Z., Comte I. *et al.* Dopamine stimulation of postnatal murine subventricular zone neurogenesis via the D₃ receptor // *J. Neurochem.* — 2010. — Vol. 114, No 3. — PP. 750–760.
184. King J. A., Abend S., Edwards E. *et al.* Genetic predisposition and the development of posttraumatic stress disorder in an animal model // *Biol. Psychiatry.* — 2001. — Vol. 50, No 4. — PP. 231–237.
185. Klempin F., Babu H., Tonelli D. de P. *et al.* Oppositional effects of serotonin receptors 5-HT_{1A}, ₂, and _{2A} in the regulation of adult hippocampal neurogenesis // *Front. Mol. Neurosci.* — 2010. — Vol. 3, Art. 14. — 11 pp.
186. Koburg E., Maurer W. Autoradiographic studies with ³H-thymidine on the duration of the desoxyribonucleic acid synthesis and its time lapse in the intestinal epithelium and other cell types in the mouse // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1962. — Vol. 61. — PP. 229–242.

187. Kodama M., Fujioka T., Duman R. S. Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat // *Biol. Psychiatry*. — 2004. — Vol. 56, No 8. — PP. 570–580.
188. Kolassa I. T., Ertl V., Eckart C. *et al.* Association study of trauma load and SLC6A4 promoter polymorphism in posttraumatic stress disorder: evidence from survivors of the Rwandan genocide // *J. Clin. Psychiatry*. — 2010a. — Vol. 71, No 5. — PP. 543–547.
189. Kolassa I. T., Kolassa S., Ertl V. *et al.* The risk of posttraumatic stress disorder after trauma depends on traumatic load and the catechol-*o*-methyltransferase Val(158)Met polymorphism // *Biol. Psychiatry*. — 2010b. — Vol. 67, No 4. — PP. 304–308.
190. Kozlovsky N., Matar M. A., Kaplan Z. *et al.* The immediate early gene Arc is associated with behavioral resilience to stress exposure in an animal model of posttraumatic stress disorder // *Eur. Neuropsychopharmacol.* — 2008. — Vol. 18, No 2. — PP. 107–116.
191. Krishnan V., Nestler E. J. The molecular neurobiology of depression // *Nature*. — 2008. — Vol. 455, No 7215. — PP. 894–902.
192. Kumar S. S., Buckmaster P. S. Neuron-specific nuclear antigen NeuN is not detectable in gerbil *substantia nigra pars reticulata* // *Brain Res.* — 2007. — Vol. 1142. — PP. 54–60.
193. Lambert G., Johansson M., Agren H., Friberg P. Reduced brain norepinephrine and dopamine release in treatment-refractory depressive illness: evidence in support of the catecholamine hypothesis of mood disorders // *Arch. Gen. Psychiatry*. — 2000. — Vol. 57, No 8. — PP. 787–793.
194. Lazarus R. S. Psychological stress and the coping process. — N. Y.: McGraw-Hill, 1966. — 466 pp.
195. Lee T., Jarome T., Li S. J. *et al.* Chronic stress selectively reduces hippocampal volume in rats: a longitudinal magnetic resonance imaging study // *Neuroreport*. — 2009. — Vol. 20, No 17. — PP. 1554–1558.

196. Leonard B. E. From animals to man: Advantages, problems and pitfalls of animal models in psychopharmacology / In: Human Psychopharmacology: Measures and Methods (V. 2) / Eds I. Hindmarch, P. D. Stonier. — Wiley & Sons, 1989. — PP. 334–345.
197. Levin D. S., Bai W., Yao N. *et al.* An interaction between DNA ligase I and proliferating cell nuclear antigen: implications for Okazaki fragment synthesis and joining // Proc. Natl Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 94, No 24. — PP. 12862–12868.
198. Li X., Li J., Harrington M. R. *et al.* Lagging strand DNA synthesis at the eukaryotic replication fork involves binding and stimulation of FEN-1 by PCNA // J. Biol. Chem. — 1995. — Vol. 270, Iss. 38. — PP. 22109–22112.
199. Lie D. C., Dziewczapolski G., Willhoite A. R. *et al.* The adult *substantia nigra* contains progenitor cells with neurogenic potential // J. Neurosci. — 2002. — Vol. 22, No. 15. — PP. 6639–6649.
200. Liston C., Miller M. M., Goldwater D. S. *et al.* Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting // J. Neuroscience. — 2006. — Vol. 26, No 30. — PP. 7870–7874.
201. Lu A. T., Ogdie M. N., Järvelin M. R. *et al.* Association of the cannabinoid receptor gene (*CNR1*) with ADHD and post-traumatic stress disorder // Am. J. Med. Genet. B, Neuropsychiatr. Genet. — 2008. — Vol. 147B, Iss. 8. — PP. 1488–1494.
202. Lyons D. M. Stress, depression, and inherited variation in primate hippocampal and prefrontal brain development // Psychopharmacol. Bull. — 2002. — Vol. 36, No 1. — PP. 27–43.
203. Maga G., Villani G., Tillement V. *et al.* Okazaki fragment processing: modulation of the strand displacement activity of DNA polymerase delta by the concerted action of replication protein A, proliferating cell nuclear antigen, and flap endonuclease-1 // Proc. Natl Acad. Sci. USA. — 2001. — Vol. 98, No 25. — PP. 14298–14303.

204. Magariños A. M., McEwen B. S., Flügge G., Fuchs E. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews // *J. Neuroscience*. — 1996. — Vol. 16, No 10. — PP. 3534–3540.
205. Malberg J. E. Implications of adult hippocampal neurogenesis in antidepressant action // *J. Psychiatry Neurosci*. — 2004. — Vol. 29, No 3. — PP. 196–205.
206. Marshall R. D., Garakani A. Psychobiology of the acute stress response and its relationship to the psychobiology of post-traumatic stress disorder // *Psychiatr. Clin. North. Am.* — 2002. — Vol. 25, No 2. — PP. 85–95.
207. Matarredona E. R., Murillo-Carretero M., Moreno-López B., Estrada C. Role of nitric oxide in subventricular zone neurogenesis // *Brain Res. Brain Res. Rev.* — 2005. — Vol. 49, No 2. — PP. 355–366.
208. Mathew E. S., Manji H. K., Charney D. S. Novel drugs and therapeutic targets for severe mood disorders // *Neuropsychopharmacology*. — 2008. — Vol. 33, No 9. — PP. 2080–2092.
209. Matsuoka S., Yamaguchi M., Matsukage A. D-type cyclin-binding regions of proliferating cell nuclear antigen // *J. Biol. Chem.* — 1994. — Vol. 269, No 15. — PP. 11030–11036.
210. McEwen B. S., Magarinos A. M. Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders // *Hum. Psychopharmacol.* — 2001. — Vol. 16, Iss. S1. — PP. S7–S19.
211. McEwen B. S., Sapolsky R. M. Stress and cognitive function // *Curr. Opin. Neurobiol.* — 1995. — Vol. 5, No 2. — PP. 205–216.
212. McLaughlin K. J., Baran S. E., Wright R. L., Conrad C. D. Chronic stress enhances spatial memory in ovariectomized female rats despite CA3 dendritic retraction: possible involvement of CA1 neurons // *Neuroscience*. — 2005. — Vol. 135, No 4. — PP. 1045–1054.
213. McLaughlin K. J., Gomez J. L., Baran S. E., Conrad C. D. The effects of chronic stress on hippocampal morphology and function: an evaluation of chronic restraint paradigms // *Brain Res.* — 2007. — Vol. 1161. — PP. 56–64.

214. Missale C., Nash S. R., Robinson S. W. *et al.* Dopamine receptors: from structure to function // *Physiol. Rev.* — 2000. — Vol. 78, No 1. — PP. 189–225.
215. Mitra R., Sundlass K., Parker K. J. *et al.* Social stress-related behavior affects hippocampal cell proliferation in mice // *Physiol. Behav.* — 2006. — Vol. 89, No 2. — PP. 123–127.
216. Mullen R. J., Buck C. R., Smith A. M. NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates // *Development.* — 1992. — Vol. 116, No 1. — PP. 201–211.
217. Náместková K., Simonová Z., Syková E. Decreased proliferation in the adult rat hippocampus after exposure to the Morris water maze and its reversal by fluoxetine // *Behav. Brain Res.* — 2005. — Vol. 163, No 1. — PP. 26–32.
218. Neumeister A., Bain E., Nugent A. C. *et al.* Reduced serotonin type 1_A receptor binding in panic disorder // *J. Neurosci.* — 2004. — Vol. 24, No 3. — PP. 589–591.
219. Nowak B., Zadrožna M., Ossowska G. *et al.* Alterations in hippocampal calcium-binding neurons induced by stress models of depression: a preliminary assessment // *Pharmacol. Rep.* — 2010. — Vol. 62, No 6. — PP. 1204–1210.
220. Nutt D. J. Relationship of neurotransmitters to the symptoms of major depressive disorder // *J. Clin. Psychiatry.* — 2008. — Vol. 69, Suppl. E1. — PP. 4–7.
221. O'Donnell T., Hegadoren K. M., Coupland N. C. Noradrenergic mechanisms in the pathophysiology of post-traumatic stress disorder // *Neuropsychobiology.* — 2004. — Vol. 50, No 4. — PP. 273–283.
222. O'Keefe G. C., Barker R. A., Caldwell M. A. Dopaminergic modulation of neurogenesis in the subventricular zone of the adult brain // *Cell Cycle.* — 2009. — Vol. 8, No 18. — PP. 2888–2894.
223. Oppenheim H. *Die traumatischen Neurosen.* — Berlin: Hirschwald, 1889.
224. Overstreet D. H. The Flinders sensitive line rats: a genetic animal model of depression // *Neurosci. Biobehav. Rev.* — 1993. — Vol. 17, No 1. — PP. 51–68.
225. Paizanis E., Hamon M., Lanfumey L. Hippocampal neurogenesis, depressive disorders, and antidepressant therapy // *Neural Plast.* — 2007. — Vol. 2007, Art. ID 73754. — 7 pp.

226. Pauls F., Lepach A. C., Petermann F. Depression and memory: comparison of memory performances in depressive and healthy adults (Article in German) // *Gesundheitswesen*. — 2013. — Vol. 75, No 11. — PP. 754–760.
227. Paxinos G., Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Sixth Edition. — Academic Press, 2007. — 450 pp.
228. Pellow S., Clopin P., File S. E., Briley M. Validation of open:closed arm entries in the elevated plus-maze as measure of anxiety in the rat // *J. Neurosci. Methods*. — 1985. — Vol. 14, No 3. — PP. 149–167.
229. Peña-Altamira E., Petazzi P., Contestabile A. Nitric oxide control of proliferation in nerve cells and in tumor cells of nervous origin // *Curr. Pharm. Des.* — 2010. — Vol. 16, No 4. — PP. 440–450.
230. Perez-Cruz C., Müller-Keuker J. I., Heilbronner U. *et al.* Morphology of pyramidal neurons in the rat prefrontal cortex: lateralized dendritic remodeling by chronic stress // *Neural Plast.* — 2007. — Vol. 2007, Art. ID 46276. — 14 pp.
231. Porsolt R. D., Bertin A., Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants // *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* — 1977. — Vol. 229, No 2. — PP. 327–336.
232. Pucilowski O., Overstreet D. H., Rezvani A. H., Janowsky D. S. Chronic mild stress-induced anhedonia: greater effect in a genetic rat model of depression // *Physiol. Behav.* — 1993. — Vol. 54, No 6. — PP. 1215–1220.
233. Quastler H., Sherman F. D. Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse // *Exp. Cell Res.* — 1959. — Vol. 17, No 3. — PP. 420–438.
234. Rammal H., Bouayed J., Soulimani R. A direct relationship between aggressive behavior in the resident/intruder test and cell oxidative status in adult male mice // *Eur. J. Pharmacol.* — 2010. — Vol. 627, Nos 1–3. — PP. 173–176.
235. Richert K. A., Carrion V. G., Karchemskiy A., Reiss A. L. Regional differences of the prefrontal cortex in pediatric PTSD: an MRI study // *Depress. Anxiety*. — 2006. — Vol. 23, Iss. 1. — PP. 17–25.
236. Rodriguez Bambico F., Belzung C. Novel insights into depression and antidepressants: a synergy between synaptogenesis and neurogenesis? / In: *Neuro-*

- genesis and Neural Plasticity / Eds C. Belzung, P. Wigmore. // *Curr. Top. Behav. Neurosci.* — Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg, 2013. — Vol. 15. — PP. 243–291.
237. Roozendaal B. 1999 Curt P. Richter award. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation // *Psychoneuroendocrinology.* — 2000. — Vol. 25, No 3. — PP. 213–238.
238. Sahay A., Hen R. Adult hippocampal neurogenesis in depression // *Nat. Neurosci.* — 2007. — Vol. 10, No 9. — PP. 1110–1115.
239. Samuels B. A., Hen R. Neurogenesis and affective disorders // *Eur. J. Neurosci.* — 2011. — Vol. 33, No 6. — PP. 1152–1159.
240. Santarelli L., Saxe M., Gross C. *et al.* Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants // *Science.* — 2003. — Vol. 301, No 5634. — PP. 805–809.
241. Schmidt U., Holsboer F., Rein T. Epigenetic aspects of posttraumatic stress disorder // *Dis. Markers.* — 2011. — Vol. 30, Nos 2–3. — PP. 77–87.
242. Schoenfeld T. J., Gould E. Differential effects of stress and glucocorticoids on adult neurogenesis / In: *Neurogenesis and Neural Plasticity* / Eds C. Belzung, P. Wigmore. // *Curr. Top. Behav. Neurosci.* — Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg, 2013. — Vol. 15. — PP. 139–164.
243. Schurtenberger P., Egelhaaf S. U., Hindges R. *et al.* The solution structure of functionally active human proliferating cell nuclear antigen determined by small-angle neutron scattering // *J. Mol. Biol.* — 1998. — Vol. 275, No 1. — PP. 123–132.
244. Segman R. H., Shalev A. Y. Genetics of posttraumatic stress disorder // *CNS Spectr.* — 2003. — Vol. 8, No 9. — PP. 693–698.
245. Segman R. H., Cooper-Kazaz R., Macciardi F. *et al.* Association between the dopamine transporter gene and posttraumatic stress disorder // *Mol. Psychiatry.* — 2002. — Vol. 7, No 8. — PP. 903–907.
246. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents // *Nature.* — 1936. — Vol. 138, No 3479. — P. 32.

247. Sheline Y. I., Sanghavi M., Mintun M. A., Gado M. H. Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression // *J. Neurosci.* — 1999. — Vol. 19, No 12. — PP. 5034–5043.
248. Sher L. A model of suicidal behavior in war veterans with posttraumatic mood disorder // *Med. Hypotheses.* — 2009. — Vol. 73, No 2. — PP. 215–219.
249. Shirayama Y., Chaki S. Neurochemistry of the nucleus accumbens and its relevance to depression and antidepressant action in rodents // *Curr. Neuropharmacol.* — 2006. — Vol. 4, No 4. — PP. 277–291.
250. Shneider N. A., Brown M. N., Smith C. A. *et al.* Gamma motor neurons express distinct genetic markers at birth and require muscle spindle-derived GDNF for postnatal survival // *Neural Dev.* — 2009. — Vol. 4. — P. 42.
251. Skelton K., Ressler K. J., Norrholm S. D. *et al.* PTSD and gene variants: new pathways and new thinking // *Neuropharmacology.* — 2012. — Vol. 62, No 2. — PP. 628–637.
252. Smith M. L., Chen I. T., Zhan Q. *et al.* Interaction of the p53-regulated protein Gadd45 with proliferating cell nuclear antigen // *Science.* — 1994. — Vol. 266, No 5189. — PP. 1376–1380.
253. Strobel A., Gutknecht L., Rothe C. *et al.* Allelic variation in 5-HT_{1A} receptor expression is associated with anxiety- and depression-related personality traits // *J. Neural Transm.* — 2003. — Vol. 110, No 12. — PP. 1445–1453.
254. Su Y. A., Wu J., Zhang L. *et al.* Dysregulated mitochondrial genes and networks with drug targets in postmortem brain of patients with posttraumatic stress disorder (PTSD) revealed by human mitochondria-focused cDNA microarrays // *Int. J. Biol. Sci.* — 2008. — Vol. 4, No 4. — PP. 223–235.
255. Sutherland G. R. The role of nucleotides in human fragile site expression // *Mutat. Res.* — 1988. — Vol. 200, Nos 1–2. — PP. 207–213.
256. Takasaki Y., Deng J. S., Tan E. M. A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast transformation // *J. Exp. Med.* — 1981. — Vol. 154, No 6. — PP. 1899–1909.

257. Tanvig M., Blaabjerg M., Andersen R. K. *et al.* A brain slice culture model for studies of endogenous and exogenous precursor cell migration in the rostral migratory stream // *Brain Res.* — 2009. — Vol. 1295. — PP. 1–12.
258. Tippett L. J., Waldvogel H. J., Thomas S. J. *et al.* Striosomes and mood dysfunction in Huntington's disease // *Brain.* — 2007. — Vol. 130, Pt 1. — PP. 206–221.
259. Tischler L., Brand S. R., Stavitsky K. *et al.* The relationship between hippocampal volume and declarative memory in a population of combat veterans with and without PTSD // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2006. — Vol. 1071. — PP. 405–409.
260. Toschi L., Bravo R. Changes in cyclin/proliferating cell nuclear antigen distribution during DNA repair synthesis // *J. Cell Biol.* — 1988. — Vol. 107, No 5. — PP. 1623–1628.
261. Tsaluchidu S., Cocchi M., Tonello L., Puri B. K. Fatty acids and oxidative stress in psychiatric disorders // *BMC Psychiatry.* — 2008. — Vol. 8, Suppl. 1. — P. S5.
262. Tsikunov S. G., Klimenko V. M., Kusov A. G. *et al.* Anxiety-depressive like disorders as a result of mental trauma in rats // *Proc. 7th Multidiscipl. Conf. of Biol. Psychiatry “Stress and Behavior”* (Moscow, Russia, February 26–28, 2003). — Moscow, 2003. — PP. 139–140.
263. Tsikunov S. G., Pschenichnaya A. G., Kusov A. G. *et al.* D₁ and D₂ dopamine receptors activation normalizes behavior in male and female rats with PTSD manifestations // *Proc. 14th Multidiscipl. Internat. Conf. on Neurosci. 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. 13–14.
264. Uddin M., Aiello A. E., Wildman D. E. *et al.* Epigenetic and immune function profiles associated with posttraumatic stress disorder // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* — 2010. — Vol. 107, No 20. — PP. 9470–9475.
265. Valente N. L., Vallada H., Cordeiro Q. *et al.* Candidate-gene approach in post-traumatic stress disorder after urban violence: association analysis of the genes encoding serotonin transporter, dopamine transporter, and BDNF // *J. Mol. Neurosci.* — 2011. — Vol. 44, No 1. — PP. 59–67.

266. Van Boven R. W., Harrington G. S., Hackney D. B. *et al.* Advances in neuroimaging of traumatic brain injury and posttraumatic stress disorder // *J. Rehabil. Res. Dev.* — 2009. — Vol. 46, No 6. — PP. 717–757.
267. van der Hart M. G., Czéh B., de Biurrun G. *et al.* Substance P receptor antagonist and clomipramine prevent stress-induced alterations in cerebral metabolites, cytogenesis in the dentate gyrus and hippocampal volume // *Mol. Psychiatry.* — 2002. — Vol. 7, No 9. — PP. 933–941.
268. van IJzendoorn M. H., Caspers K., Bakermans-Kranenburg M. J. *et al.* Methylation matters: interaction between methylation density and serotonin transporter genotype predicts unresolved loss or trauma // *Biol. Psychiatry.* — 2010. — Vol. 68, No 5. — PP. 405–407.
269. Varghese F. P., Brown E. S. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in major depressive disorder: a brief primer for primary care physicians // *J. Clin. Psychiatry.* — 2001. — Vol. 3, No 4. — PP. 151–155.
270. Veena J., Rao B. S., Srikumar B. N. Regulation of adult neurogenesis in the hippocampus by stress, acetylcholine and dopamine // *J. Nat. Sci. Biol. Med.* — 2011. — Vol. 2, No 1. — PP. 26–37.
271. Videbech P., Ravnkilde B. Hippocampal volume and depression: a meta-analysis of MRI studies // *Am. J. Psychiatry.* — 2004. — Vol. 161, No 11. — PP. 1957–1966.
272. Vyas A., Mitra R., Shankaranarayana Rao B. S., Chattarji S. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons // *J. Neuroscience.* — 2002. — Vol. 22, No 15. — PP. 6810–6818.
273. Waga S., Hannon G. J., Beach D., Stillman B. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA // *Nature.* — 1994. — Vol. 369, No 6481. — PP. 574–578.
274. Watanabe Y., Gould E., McEwen B. S. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons // *Brain Res.* — 1992. — Vol. 588, No 2. — PP. 341–345.

275. Weber M., Killgore W. D., Rosso I. M. *et al.* Voxel-based morphometric gray matter correlates of posttraumatic stress disorder // *J. Anxiety Disord.* — 2013. — Vol. 27, No 4. — PP. 413–419.
276. Weiner H. The dynamics of the organism: implications of recent biological thought for psychosomatic theory and research // *Psychosom. Med.* — 1989. — Vol. 51, No 6. — PP. 608–635.
277. Westenbroek C., Den Boer J. A., Veenhuis M., Ter Horst G. J. Chronic stress and social housing differentially affect neurogenesis in male and female rats // *Brain Res. Bull.* — 2004. — Vol. 64, No 4. — PP. 303–308.
278. Weyer A., Schilling K. Developmental and cell type-specific expression of the neuronal marker NeuN in the murine cerebellum // *J. Neurosci. Res.* — 2003. — Vol. 73, No 3. — PP. 400–409.
279. Winter H., Irle E. Hippocampal volume in adult burn patients with and without posttraumatic stress disorder // *Am. J. Psychiatry.* — 2004. — Vol. 161, No 12. — PP. 2194–2200.
280. Wolf H. K., Buslei R., Schmidt-Kastner R. *et al.* NeuN: a useful neuronal marker for diagnostic histopathology // *J. Histochem. Cytochem.* — 1996. — Vol. 44, No 10. — PP. 1167–1171.
281. Wolkowitz O. M. Molecules of melancholy: discovering the causes and developing treatments for major depression // *NARSAD Res. Quart.* — 2009. — Vol. 2, Iss. 2. — PP. 2–11.
282. Wong C. M. Post-traumatic stress disorder: advances in psychoneuroimmunology // *Psychiatr. Clin. North. Am.* — 2002. — Vol. 25, No 2. — PP. 369–383, vii.
283. Wong M. L., Kling M. A., Munson P. J. *et al.* Pronounced and sustained central hypernoradrenergic function in major depression with melancholic features: relation to hypercortisolism and corticotropin-releasing hormone // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97, No 1. — PP. 325–330.
284. Wood G. E., Trevor Young L., Reagan L. P. *et al.* Stress-induced structural remodeling in hippocampus: prevention by lithium treatment // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* — 2004. — Vol. 101, No 11. — PP. 3973–3978.

285. Wright R. L., Lightner E. N., Harman J. S. *et al.* Attenuating corticosterone levels on the day of memory assessment prevents chronic stress-induced impairments in spatial memory // *Eur. J. Neurosci.* — 2006. — Vol. 24, No 2. — PP. 595–605.
286. Xie P., Kranzler H. R., Poling J. *et al.* Interaction of FKBP5 with childhood adversity on risk for post-traumatic stress disorder // *Neuropsychopharmacology.* — 2010. — Vol. 35, No 8. — PP. 1684–1692.
287. Xu F. M., Greenspan J. A., Davidson R. L. Replication-dependent mutagenesis by 5-bromodeoxyuridine: identification of base change and sequence effects on mutability // *Somat. Cell Mol. Genet.* — 1990. — Vol. 16, No 5. — PP. 477–486.
288. Yehuda R. Biological factors associated with susceptibility to posttraumatic stress disorder // *Can. J. Psychiatry.* — 1999a. — Vol. 44, No 1. — PP. 34–39.
289. Yehuda R. Linking the neuroendocrinology of post-traumatic stress disorder with recent neuroanatomic findings // *Semin. Clin. Neuropsychiatry.* — 1999b. — Vol. 4, No 4. — PP. 256–265.
290. Yehuda R. Biology of posttraumatic stress disorder // *J. Clin. Psychiatry.* — 2001. — Vol. 62, Suppl. 17. — PP. 41–46.
291. Yehuda R. Risk and resilience in posttraumatic stress disorder // *J. Clin. Psychiatry.* — 2004. — Vol. 65, Suppl. 1. — PP. 29–36.
292. Yehuda R., Bierer L. M. Transgenerational transmission of cortisol and PTSD risk // *Prog. Brain. Res.* — 2008. — Vol. 167. — PP. 121–135.
293. Yehuda R., Bierer L. M. The relevance of epigenetics to PTSD: implications for the DSM-V // *J. Trauma. Stress.* — 2009. — Vol. 22, No 5. — PP. 427–434.
294. Yehuda R., LeDoux J. Response variation following trauma: a translational neuroscience approach to understanding PTSD // *Neuron.* — 2007. — Vol. 56, No 1. — PP. 19–32.
295. Yehuda R., Koenen K. C., Galea S., Flory J. D. The role of genes in defining a molecular biology of PTSD // *Dis. Markers.* — 2011. — Vol. 30, Nos 2–3. — PP. 67–76.
296. Yuzhakov A., Kelman Z., Hurwitz J., O'Donnell M. Multiple competition reactions for RPA order the assembly of the DNA polymerase delta holoenzyme // *EMBO J.* — 1999. — Vol. 18, No 21. — PP. 6189–6199.

297. Zhang L., Zhou R., Xing G. *et al.* Identification of gene markers based on well validated and subcategorized stressed animals for potential clinical applications in PTSD // *Med. Hypotheses*. — 2006. — Vol. 66, No 2. — PP. 309–314.
298. Zhou L., Zhu D. Y. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications // *Nitric Oxide*. — 2009. — Vol. 20, No 4. — PP. 223–230.