

УДК 616-092.9 + 615.214.32

# Поведенческие и нейрохимические аспекты взаимодействия антидепрессантов и непредсказуемого хронического умеренного стресса

Н. В. Кудряшов<sup>1,2,3</sup>, Т. С. Калинина<sup>1,3</sup>, А. А. Шимширт<sup>1</sup>, А. В. Волкова<sup>1</sup>, В. Б. Наркевич<sup>1</sup>, П. Л. Наплёкова<sup>1</sup>, К. А. Касабов<sup>1,2</sup>, В. С. Кудрин<sup>1</sup>, Т. А. Воронина<sup>1</sup>, В. П. Фисенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, 125315 Россия

<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, 119991 Россия

<sup>3</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, 119334 Россия

\*E-mail: kunvi@mail.ru

Поступила в редакцию 10.09.2019

Принята к печати 29.01.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.10942

**РЕФЕРАТ** Изучены поведенческие и нейрохимические эффекты амитриптилина (10 мг/кг, внутрибрюшинно) и флуоксетина (20 мг/кг, внутрибрюшинно) после однократного и хронического введения в условиях моделирования хронического умеренного стресса у аутбредных мышей ICR (CD-1). После 28 дней воздействия стресса наблюдали усиление депрессивных реакций мышей в тесте «вынужденное плавание» и уменьшение уровней серотонина (5-НТ) и 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) в гиппокампе, повышение концентрации норадреналина (НА) в гипоталамусе. Однократное и хроническое введение амитриптилина или флуоксетина приводило к уменьшению времени иммобилизации и увеличению плавания мышей в тесте «вынужденное плавание». Антидепрессивный эффект флуоксетина, но не амитриптилина, после однократного введения сочетался с увеличением обмена 5-НТ в гиппокампе. Хроническое введение антидепрессантов приводило к повышению уровней НА в гипоталамусе. Таким образом, антидепрессивный эффект амитриптилина и флуоксетина может быть результатом усиления стресс-зависимых адаптивных механизмов, истощенных хроническим стрессом.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** хронический умеренный стресс, амитриптилин, флуоксетин, моноамины, «вынужденное плавание», мыши.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** 5-НТ – серотонин; 5-ОИУК – 5-оксииндолуксусная кислота; БДР – большое депрессивное расстройство; ГВК – гомованилиновая кислота; ДА – дофамин; ДОФУК – 3,4-диоксифенилуксусная кислота; мПФК – медиальная префронтальная кора; МФТП – 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин; НА – норадреналин; НХУС – непредсказуемый хронический умеренный стресс.

## ВВЕДЕНИЕ

Основной задачей медикаментозной терапии большого депрессивного расстройства (БДР) является достижение стойкой ремиссии заболевания [1]. Однако результаты многочисленных клинических исследований свидетельствуют о достижении стойкой ремиссии только у трети пациентов после курса терапии антидепрессантами [1, 2]. В связи с этим был предложен термин «терапевтически резистентная депрессия» и сформулированы критерии ее диагностики [1].

В патогенезе терапевтически резистентной депрессии особое место занимает стресс. Е.А. Young и соавт. [3] показали, что отсутствие терапевтиче-

ского эффекта флуоксетина может быть связано с гиперактивностью гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Более того, у пациентов с сочетанием БДР и болезни Кушинга, сопровождаемым гиперпродукцией гормонов коры надпочечников, отмечено уменьшение терапевтического ответа на лечение антидепрессантами [1]. Наконец, полиморфизм в промоторе гена, кодирующего переносчик серотонина, связан с повышенной уязвимостью для стрессовых воздействий, что может привести к развитию терапевтически резистентной депрессии [4].

Непредсказуемый хронический умеренный стресс (НХУС) – экспериментальная модель депрессии, разработанная более 20 лет назад [5]. Различные

модификации НХУС широко используют для моделирования взаимосвязи между стрессовыми событиями и депрессией [5–9]. Известно, что длительное воздействие неконтролируемых и непредсказуемых стрессовых факторов повседневной жизни может привести к развитию депрессивных расстройств у человека [8]. В рамках моделирования НХУС грызунов подвергают воздействию непредсказуемых стрессовых факторов умеренной выраженности на протяжении нескольких недель (2–7). Эти факторы могут носить социальный или физиологический характер (иммобилизация, изоляция, пищевая/питьевая депривация, нарушение циркадных ритмов, грязные боксы, мокрая подстилка, звуки/запахи хищников и т.д.) [5]. У грызунов, подвергнутых воздействию НХУС, снижается мотивация к потреблению раствора сахарозы и увеличивается время неподвижности в тесте «вынужденное плавание», по которым оценивают ангедонию и дисфорию в эксперименте соответственно. Кроме того, нарушение полового поведения, тревожность, уменьшение массы тела и подавление исследовательской активности также часто расценивают как признаки вызванного НХУС депрессивно-подобного состояния [7, 9, 10].

Протокол НХУС используют для оценки антидепрессивного эффекта различных веществ, однако обычно введение изучаемых веществ начинают после длительного воздействия НХУС [11–14]. Цель нашей работы состояла в изучении взаимодействия между стрессовыми факторами и эффектами антидепрессантов, поэтому начало хронического введения амитриптилина и флуоксетина совпадало во времени с началом процедуры НХУС. Таким образом, схема представленного эксперимента позволит оценить поведенческие и нейрохимические эффекты антидепрессантов в динамике развития реакции на НХУС. Такой подход может позволить дать ответ на вопрос о возможных структуроспецифичных нейрохимических взаимодействиях между хроническим стрессом и антидепрессантами.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Животные

Эксперименты проводили на 60 самцах мышей ICR (CD-1) массой 25–35 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественной суточной смене освещенности день/ночь, свободном доступе к воде и корму. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики, утвержденной приказом № 199н от 01.04.2016 г. Минздрава РФ. При проведении экспериментов были приняты меры, исключающие излишние физические страдания или повреждения животных.

### Вещества

Флуоксетина гидрохлорид (Sigma Aldrich) растворяли в 0.9% растворе NaCl с добавлением Твин-80 (Sigma Aldrich). Раствор амитриптилина 10 мг/мл («Московский эндокринный завод») разводили в 0.9% растворе NaCl. Растворы флуоксетина (20 мг/кг) и амитриптилина (10 мг/кг) вводили внутривентрикулярно. Дозы антидепрессантов были выбраны в соответствии с ранее проведенными исследованиями [15]. Выбор препаратов обусловлен следующими факторами: (1) амитриптилин – трициклический антидепрессант, неизбирательный ингибитор обратного захвата моноаминов с преобладанием седативного эффекта над стимулирующим, флуоксетин – селективный ингибитор обратного захвата серотонина с выраженным стимулирующим эффектом; (2) амитриптилин и флуоксетин являются эталонными препаратами при доклиническом изучении антидепрессивного эффекта новых соединений; (3) флуоксетин способен стимулировать нейростероидогенез в ЦНС – часть адаптивной реакции организма на стресс, что дополнительно обуславливает актуальность изучения взаимодействия флуоксетина и хронического стресса [16].

### Непредсказуемый хронический умеренный стресс

Животных в течение 4 недель в квазислучайной последовательности подвергали воздействию стрессовых факторов: мокрая подстилка, грязные боксы, водная депривация, уменьшение продолжительности светового дня и т.д. (таблица).

### Тест «вынужденное плавание»

Антидепрессивную активность изучали в модифицированном варианте теста «вынужденное плавание» для мышей [16]. Пластиковые цилиндры (высота 30 см, диаметр 10 см) на 20 см заполняли водой температурой  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . За сутки до проведения теста мышью помещали в цилиндры с водой на 5 мин, затем бережно высушивали и возвращали в боксы. В день проведения теста мышью помещали в цилиндры с водой на 5 мин и при видеофиксации регистрировали длительность (секунды) клаймбинга, плавания и иммобилизации. *Клаймбинг* – направленные вверх движения передних лап вдоль стенок цилиндра. *Плавание* – активное использование животным передних лап (без подъема над поверхностью воды) для передвижения вперед, в центр или вдоль стенок цилиндра. *Иммобилизация* – отсутствие активности, кроме необходимой для поддержания головы над поверхностью воды: движения хвостом или ограниченные движения конечностями.

### Нейрохимические измерения

Декапитацию проводили через 30 мин после поведенческого теста. Структуры головного мозга мышью

Протокол НХУС

1 день	2 день	3 день	4 день	5 день	6 день	7 день
Мокрая подстилка 11:00–15:00	Отсутствие освещения 16:00 → 11:00		Запах кошки 13:00–14:00	Переполненные боксы 9:00–17:00	Белый шум 12:00–15:00	Грязные боксы
8 день	9 день	10 день	11 день	12 день	13 день	14 день
Питьевая депривация 12:00 → 12:00		Наклон боксов 16:00–20:00	Запах кошки 11:30–15:30	Пищевая депривация 12:00 → 12:00		Запах кошки 10:00–11:00
15 день	16 день	17 день	18 день	19 день	20 день	21 день
Мокрая подстилка 9:00–13:00	Белый шум 13:00–16:00	Пустые поилки 11:00–15:00	Запах кошки 9:00–10:00	Запах кошки 12:30–13:30	Переполненные боксы 9:00–13:00	Грязные боксы
22 день	23 день	24 день	25 день	26 день	27 день	28 день
Белый шум 10:00 – 15:00	Питьевая депривация 12:00 → 9:00		Запах кошки 11:00–12:00	Переполненные боксы 15:00–6:00	Острый плавающий стресс (5 мин)	Тест «вынужденное плавание» и нейрохимические измерения
		Пустые поилки 9:00–12:00				

(медиальная префронтальная кора (мПФК), стриатум, гипоталамус и гиппокамп) выделяли на холоде, взвешивали и хранили в жидком азоте. Для определения уровней моноаминов и их метаболитов структуры измельчали в гомогенизаторе при +4°C «стекло-тефлон» (0.2 мм) при скорости вращения пестика 3000 об/мин. В качестве среды выделения использовали 20 объемов 0.1 н. HClO<sub>4</sub> с добавлением внутреннего стандарта ДОБА (3,4-диоксибензиламин, вещество катехоламиновой природы, не встречающееся в нативной ткани) в концентрации 0.25 нмоль/мл. Пробы центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин. Супернатант использовали для определения моноаминов и их метаболитов.

Содержание моноаминов и их метаболитов определяли с помощью ВЭЖХ с электрохимической детекцией на хроматографе LC-304T (BAS, West Lafayette, США) с инжектором Rheodyne 7125, петля для нанесения образцов 20 мкл. Изучаемые вещества разделяли на обращенно-фазной колонке ReproSil-Pur, ODS-3, 4 × 100 мм, 3 мкм (Dr.Majsch GmbH, «Элсико», Москва). Насос PM-80 (BAS, США), скорость элюции подвижной фазы 1.0 мл/мин, давление 200 атм. Мобильная фаза: 0.1 М цитратно-фосфатный буфер, содержащий 1.1 mM октансульфоновой кислоты, 0.1 mM EDTA и 9% ацетонитрила (pH 3.0). Измерение проводили с помощью электрохимического детектора LC-4B (BAS, США) на стеклоугольном электроде (+0.85 V) против электрода сравнения Ag/AgCl. Регистрацию образцов проводили с применением аппаратно-программного комплекса МУЛЬТИХРОМ 1.5 (АМПЕРСЕНД). Реактивы были высокой степени чистоты: «ос. ч.», «х. ч.» или analytical grade. Для калибровки хроматографа использовали смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Концентрацию моноаминов в опытных

образцах рассчитывали методом «внутреннего стандарта» по отношению площади пиков в стандартной смеси и в образце [17].

**Статистический анализ**

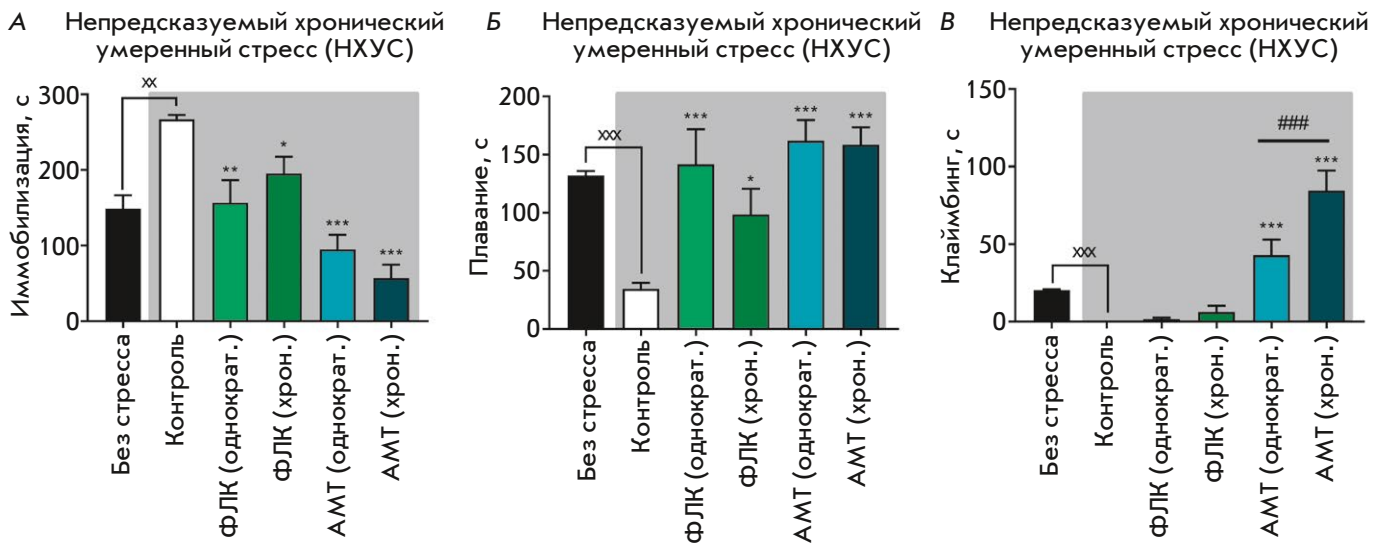
Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism7.0 (GraphPad Software Inc., США). Нормальность распределения результатов проверяли с использованием критерия Шапиро-Уилка, после чего данные представляли в виде средних значений с указанием стандартной ошибки среднего. Статистическую значимость различий между группами определяли с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим post-hoc-тестом по критерию Ньюмана-Кейлса.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

**Поведенческие изменения**

В группе животных, подвергавшихся воздействию НХУС, отмечено: подавление клаймбинга ( $p < 0.01$ ), уменьшение времени плавания в 3.8 раза ( $p < 0.001$ ), увеличение времени иммобилизации в 1.8 раза ( $p < 0.01$ ) по сравнению с животными контрольной группы (рис. 1). Как однократное введение амитриптилина мышам после НХУС, так и 28-дневное его применение на фоне НХУС приводило к восстановлению клаймбинга ( $p < 0.001$ ), увеличению времени плавания в 4.6–4.7 раза ( $p < 0.001$ ) и уменьшению периода иммобилизации в 2.8–4.7 раза ( $p < 0.001$ ) соответственно. Хроническое применение амитриптилина приводило к усилению клаймбинга по сравнению с однократным ( $p < 0.001$ ).

Однократное введение флуоксетина в условиях НХУС сопровождалось увеличением времени пла-



**Рис. 1.** Эффекты амитриптилина (10 мг/кг) и флуоксетина (20 мг/кг) в условиях НХУС в тесте «вынужденное плавание» у мышей. А – продолжительность иммобилизации. Б – продолжительность плавания. В – продолжительность клаймбинга. Значения представлены как  $M \pm SEM$ . Без стресса и контроль – 0.9% раствор NaCl (0.1 мл/10 г массы тела); НХУС – непредсказуемый хронический умеренный стресс; ФЛК – флуоксетин, АМТ – амитриптилин; однократ. – однократное введение; хрон. – хроническое введение в течение 28 дней.; ### –  $p < 0.001$  по сравнению с группой без стресса; \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  по сравнению с контролем в условиях стресса; xx –  $p < 0.01$ , xxx –  $p < 0.001$  по сравнению с однократным введением

вания в 4.1 раза ( $p < 0.001$ ) и уменьшением иммобилизации в 1.7 раза ( $p < 0.01$ ). Хроническое введение флуоксетина приводило к увеличению продолжительности плавания в 2.8 раза ( $p < 0.05$ ) и уменьшению иммобилизации в 1.4 раза ( $p < 0.05$ ).

### Нейрохимические изменения

Изменения в содержании моноаминов и их метаболитов в мПФК, полосатом теле, гипоталамусе и гиппокампе представлены на рис. 2, 3 и 4. Наиболее значимым было уменьшение 5-НТ (на 31.4%,  $p < 0.01$ ) и его обмена (на 67.9%,  $p < 0.001$ ) в гиппокампе; увеличение уровня НА в гипоталамусе (на 33.7%,  $p < 0.05$ ) и уменьшение соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе (на 49.5%,  $p < 0.05$ ) у мышей, подвергавшихся НХУС по сравнению с животными контрольной группы. Однократное и хроническое введение изучаемых антидепрессантов в условиях НХУС характеризовалось тенденцией к увеличению уровня 5-НТ и уменьшению его обмена в гиппокампе по сравнению с группой НХУС. Хроническое введение амитриптилина и флуоксетина приводило к увеличению уровня НА в гипоталамусе (на 39.5 и 39.6% соответственно;  $p < 0.001$ ) и соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе (на 150 и 133% соответственно;  $p < 0.05$ ) по сравнению с группой НХУС. Хроническое введение флуоксетина также сопровождалось увеличением соотношения ДОФУК/ДА в мПФК (на 140%,  $p < 0.001$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

НХУС приводил к усилению депрессивно-подобного поведения, что согласуется с данными других исследований и наблюдается также при субхроническом введении кортикостерона [7, 9, 18]. Вызванные НХУС нейрохимические изменения наблюдали во всех изученных структурах, но для каждой из них был характерен свой профиль. Так, в мПФК регистрировали лишь увеличение уровня 5-НТ, в гипоталамусе наблюдали увеличение содержания и НА, и 5-НТ, в полосатом теле – рост концентраций 5-НТ при снижении его обмена. В гиппокампе мышей, подвергнутых НХУС, наблюдали снижение содержания и метаболизма 5-НТ, снижение метаболизма ДА, определяемого по обороту ДОФУК, а также увеличение содержания другого метаболита 3-МТ, отражающего снижение функции транспортера дофамина.

Таким образом, наиболее существенные изменения в содержании и метаболизме моноаминов при депрессивно-подобных реакциях мышей наблюдали в гиппокампе. Обращает на себя внимание то, что увеличение уровня 5-НТ регистрировали во всех структурах, кроме гиппокампа, где уровень 5-НТ был снижен, что ранее наблюдали и при хроническом шумовом [19] и иммобилизационном [20] стрессах. В ряде работ отмечено не увеличение уровней 5-НТ после НХУС [21–24], а его уменьшение, включая эксперименты, где плавательный стресс был од-



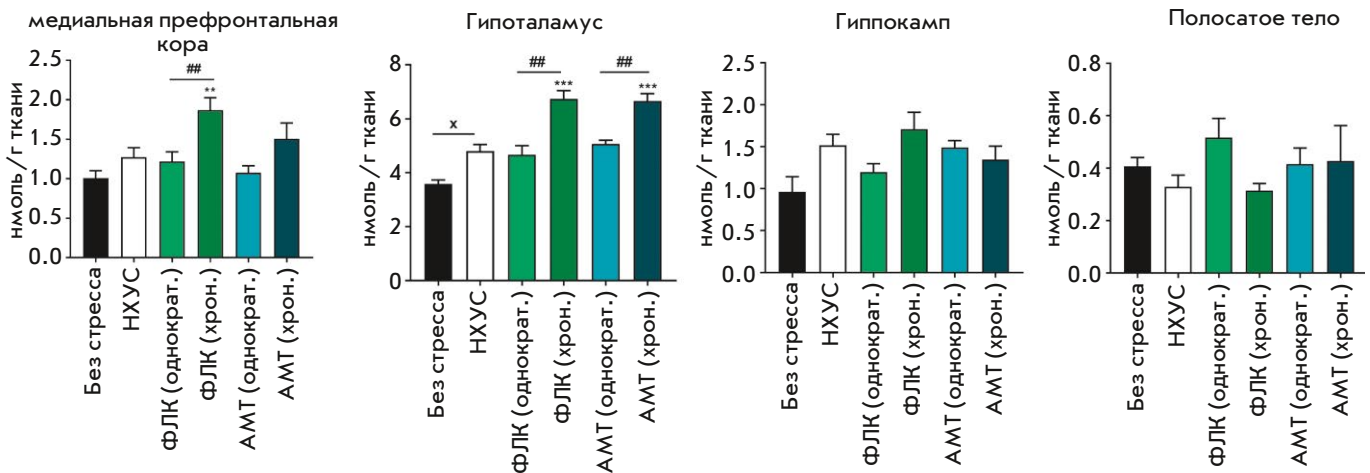


Рис. 2. Влияние амитриптилина (10 мг/кг) и флуоксетина (20 мг/кг) на содержание НА в головном мозге мышей в условиях НХУС. x –  $p < 0.05$  по сравнению с группой без стресса. \*\*, \*\*\* –  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  по сравнению с НХУС. ### –  $p < 0.01$  по сравнению с однократным введением

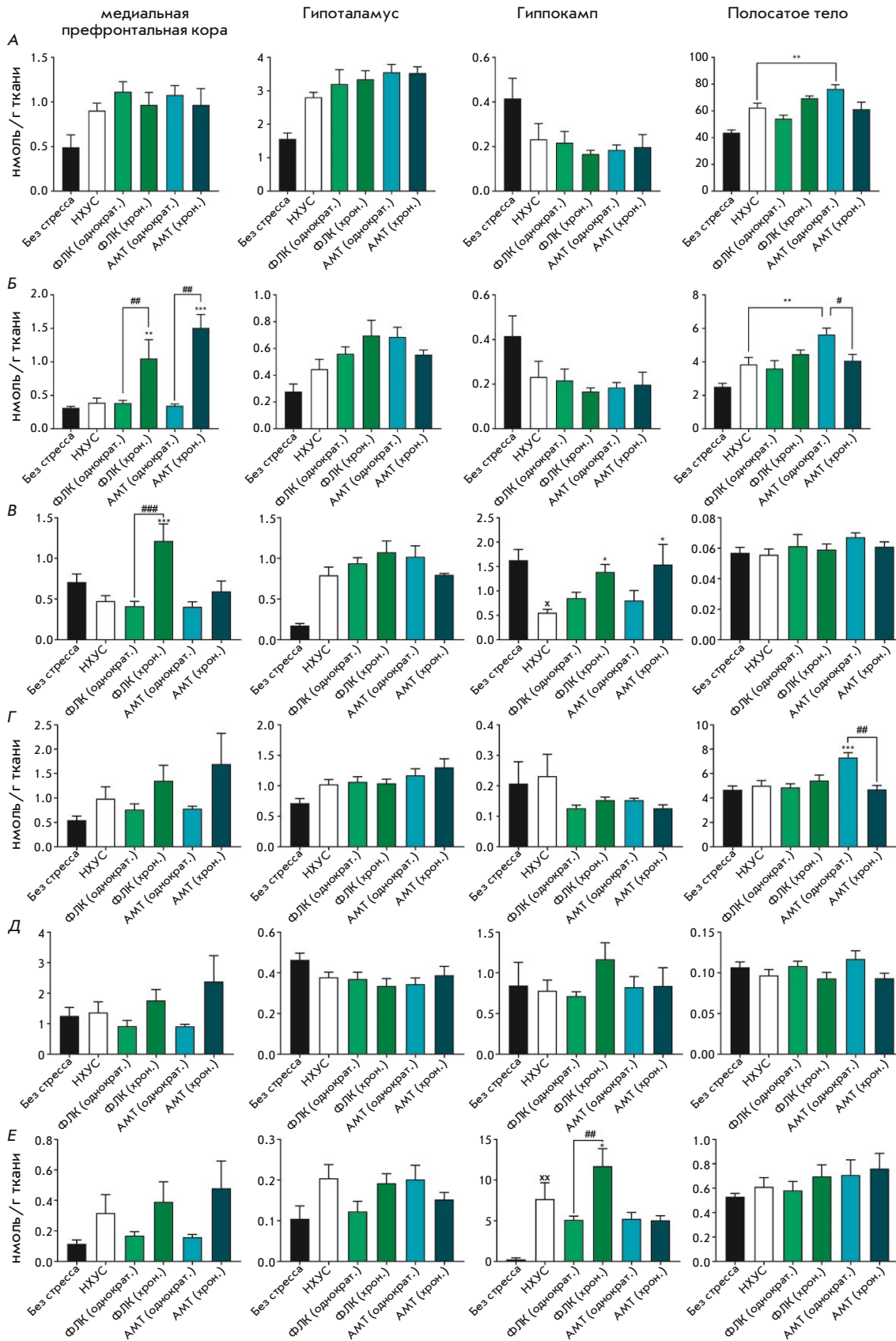
ним из компонентов процедуры хронического стресса [22–24]. Это противоречие можно объяснить использованием в упомянутых работах мышей с генетическим дефицитом и тем, что плавательный стресс не был последней процедурой перед оценкой содержания уровней моноаминов, в то время как в нашем исследовании мышей декапитировали через 30 мин после «вынужденного плавания». Вместе с тем, однократное и повторное воздействие плавательного стресса приводит к повышению внеклеточных концентраций 5-НТ и 5-ОИУК в различных структурах головного мозга грызунов [25–28], а различные острые стрессоры (электрошок, сдавливание хвоста и т.д.) приводят к увеличению активности 5-НТ в нейронах ядер среднего мозга и повышению уровней 5-НТ в миндалевидном теле, мПФК, ядрах шва, гиппокампе [29]. По-видимому, наблюдаемый нами ответ гиппокампа на плавательный стресс, последний в батарее непредвиденных стрессовых факторов, совпадал с реакцией на хронический стресс и характеризовался истощением 5-НТ. Эти результаты согласуются с данными об увеличении активности MAO-A и истощении 5-НТ после процедуры НХУС, а также с уменьшением 5-ОИУК в спинномозговой жидкости пациентов с депрессией [29].

Эти нейрохимические изменения в серотонинергической системе могут быть связаны с влиянием процедуры хронического стресса на процессы взрослого нейрогенеза в гиппокампе. При изучении взаимодействия нейрогенеза и стресса [30] установили, что процедура НХУС (в течение 14 последовательных дней) приводила к уменьшению числа даблкортин-позитивных клеток в дорсальном и вентральном гиппокампе и увеличению концентрации кортикостерона в плазме крови крыс. Более того, эти измене-

ния коррелировали с усилением тревожных реакций. Показано также уменьшение выживания новообразованных нейронов в гиппокампе и субвентрикулярной зоне после НХУС [31].

5-НТ играет важную роль в поддержании гомеостаза, в то время как его истощение коррелирует с симптоматикой тревожных и депрессивных расстройств. При этом известно, что 5-НТ вносит значительный вклад в регуляцию процессов взрослого нейрогенеза в гиппокампе [32]. Получены доказательства модуляторной роли 5-НТ в процессах нейрогенеза в гиппокампе, основанные на фармакологических манипуляциях с 5-НТ нейронами ядер шва и ингибированием синтеза 5-НТ в ЦНС [33, 34]. Ингибирование синтеза 5-НТ приводило к снижению пролиферации и выживания прогениторных клеток гиппокампа и уменьшению числа даблкортин-позитивных клеток в нейрогенной нише в гиппокампе [34]. Разрушение 5-НТ нейронов в ядрах шва сопровождалось уменьшением числа вновь образованных гранулярных клеток, меченных бромдеоксиуридином, в зубчатой извилине гиппокампа [33]. Наконец, большое количество 5-НТ рецепторов вовлечено в прямую и непрямую регуляцию различных стадий взрослого нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа [32].

Мы предполагаем существование корреляции между наблюдаемым избирательным уменьшением уровней 5-НТ в гиппокампе и депрессивно-подобным поведением мышей в тесте «вынужденное плавание» при НХУС. Возможно, концентрация 5-НТ в гиппокампе может служить интегративным нейрохимическим маркером интенсивности пролиферативной стадии нейрогенеза при стрессе разной продолжительности.



**Рис. 3.** Влияние амитриптилина (10 мг/кг) и флуоксетина (20 мг/кг) на содержание ДА (А), ДОФУК (Б), ДОФУК/ДА (В), ГВК (Г), ГВК/ДА (Д), 3-МТ (Е) в головном мозге мышей в условиях НХУС. х –  $p < 0.05$ ; хх –  $p < 0.01$  по сравнению с группой без стресса. \*; \*\*; \*\*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  по сравнению с НХУС. #; ##; ### –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  по сравнению с однократным введением

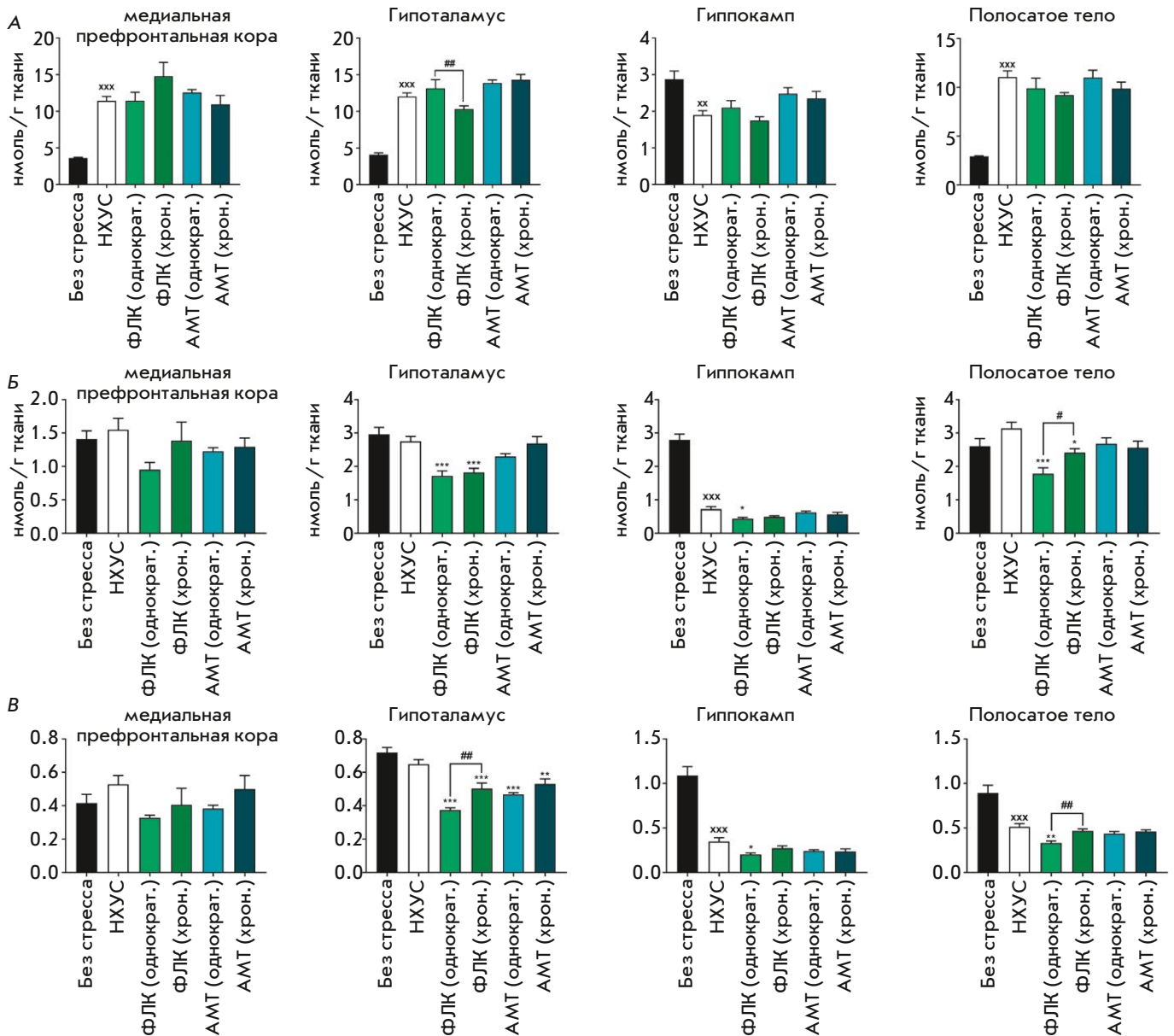


Рис. 4. Влияние амитриптилина (10 мг/кг) и флуоксетина (20 мг/кг) на содержание 5-НТ (А), 5-ОИУК (Б), 5-ОИУК/5-НТ (В) в головном мозге мышей в условиях НХУС. xx, xxx –  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  по сравнению с группой без стресса. \*, \*\*, \*\*\* –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  по сравнению с НХУС. #; ## –  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  по сравнению с однократным введением

Нами выявлено повышение уровней НА в гипоталамусе после НХУС. Увеличение концентрации и метаболизма НА отмечали после 14-дневного [21, 35], но не 54–60-дневного НХУС [36, 37]. Мы предполагаем, что увеличение уровней НА в гипоталамусе можно рассматривать как ответ на хронический стресс, и эти изменения могут указывать на активацию адаптивных механизмов, поддерживающих нейрогенез. Увеличение уровней НА после непродолжительной процедуры НХУС (2–4 недели) со-

впадает по времени с другим процессом, а именно с пролиферацией стволовых клеток во взрослом гиппокампе [38–40]. Известно, что прямая стимуляция  $\beta_3$ -адренорецепторов приводит к росту числа пролиферирующих клеток в гиппокампе [41]. Кроме того, это согласуется с возможным участием гипоталамуса в регуляции процессов нейрогенеза [42, 43]. Таким образом, эти факты могут указывать на взаимосвязь между повышением концентрации НА в гипоталамусе и активацией адаптивных механизмов в ЦНС,

которые могут истощаться после длительного (4 недели и более) воздействия стресса.

Обращает на себя внимание то, что НХУС не влиял значимо на концентрации дофамина и его метаболитов ни в одной из анализируемых структур, за исключением многократного увеличения 3-МТ и селективного снижения обмена ДОФУК/ДА в гиппокампе.

Антидепрессивные свойства и амитриптилина, и флуоксетина проявлялись и после однократного, и после хронического введения независимо от стресса, но имели некоторые особенности. Так, восстановление клаймбинга наблюдали при однократном введении амитриптилина, но не флуоксетина. При хроническом применении трициклического антидепрессанта этот эффект усиливался.

Выявлены следующие нейрохимические эффекты антидепрессантов: 1) антагонистические по отношению к НХУС эффекты; 2) усиление изменений, обусловленных НХУС; 3) влияние на параметры, не измененные самой процедурой стресса, и 4) эффекты, наблюдаемые при хроническом, но не однократном введении. Как упоминалось ранее, НХУС снижает соотношение ДОФУК/ДА в гиппокампе более чем в 3 раза по сравнению с нестрессированными животными. Хроническое (но не однократное) введение и амитриптилина, и флуоксетина восстанавливало этот параметр до контрольных значений, применение обоих антидепрессантов приводило к еще большему по сравнению с НХУС увеличению содержания НА в гипоталамусе. Хроническое введение флуоксетина стрессированным мышам повышало также концентрации НА в префронтальной коре, что согласуется с выводами R. Xue и соавт. [44].

Выявлено изменение содержания серотонина во всех изученных структурах под влиянием НХУС, однако однократное или длительное применение антидепрессантов не влияло на содержание серотонина. Вместе с тем, флуоксетин, но не амитриптилин, снижал не измененную НХУС концентрацию метаболита серотонина в гипоталамусе и полосатом теле, обмен серотонина – в гипоталамусе, а также усиливал влияние НХУС на обмен серотонина в гиппокампе и полосатом теле, что согласуется со способностью антидепрессанта селективно влиять на переносчик серотонина. Флуоксетин, но не амитриптилин, при однократном, но не хроническом, введении отменял влияние НХУС на содержание метаболита ДА – 3-МТ.

Таким образом, поведенческие эффекты, наблюдаемые при однократном и длительном применении антидепрессантов у мышей в условиях НХУС, сопряжены с изменениями в содержании и метаболизме моноаминов. Однако общее свойство флуоксетина и амитриптилина, способность при хроническом введении восстанавливать соотношение ДОФУК/ДА

до контрольных значений и потенцировать увеличение содержания НА в гипоталамусе, позволяет именно эти нейрохимические изменения рассматривать в качестве субстрата антидепрессивного эффекта препаратов в тесте «вынужденного плавания».

Известно, что антидепрессанты способны в 2–4 раза увеличивать количество митозов в субгранулярной зоне зубчатой фасции гиппокампа [32, 45]. Аналогичное действие оказывает острый стресс [46], в то время как хронический стресс приводит к уменьшению числа митозов прогениторных клеток [30, 31].

Процедура 28-дневного НХУС статистически значимо снижала соотношение ДОФУК/ДА в гиппокампе и тенденции к аналогичным изменениям в мПФК. Хроническое, но не однократное, введение флуоксетина и амитриптилина сопровождалось увеличением соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе. Таким образом, увеличение соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе сочетается с антидепрессивным эффектом и усилением нейрогенеза, а уменьшение – с развитием депрессивно-подобного поведения и снижением нейрогенеза.

Вышеизложенное позволяет рассматривать соотношение ДОФУК/ДА в качестве маркера процессов нейрогенеза в головном мозге взрослых млекопитающих, однако это требует дальнейших исследований. Так, увеличение этого соотношения может указывать на положительную регуляцию пролиферации клеток-предшественников, в то время как уменьшение этого соотношения может, напротив, указывать на подавление процессов нейрогенеза. Различные воздействия, например ингаляционное введение 1-бромпропана или внутрибрюшинное введение пронеуротоксина МФТП, приводили к подавлению взрослого нейрогенеза и одновременному уменьшению обмена ДОФУК/ДА у грызунов [47–49].

Инттоксикация 1-бромпропаном связана с развитием депрессивно-подобного поведения и нарушением когнитивных функций у крыс [49]. Показано, что 4-недельное воздействие 1-бромпропана приводило к уменьшению количества бромдезоксигуанидин-позитивных клеток в зубчатой извилине гиппокампа и уменьшению экспрессии генов и уровня BDNF в гиппокампе крыс. Таким образом, снижение обмена ДА может свидетельствовать о подавлении взрослого нейрогенеза в гиппокампе в условиях субхронического ингаляционного введения этого нейротоксина.

Однократное введение МФТП может приводить к увеличению соотношения ДОФУК/ДА, уровня 5-НТ и уменьшению соотношения 5-НТ/5-ОИУК в гиппокампе у мышей линии C57BL/6 через 90 мин после введения нейротоксина [48]. Ранее показали, что через несколько дней после однократного введения МФТП наблюдается дегенерация дофа-



минергических нейронов в черной субстанции [50]. Кроме того, количество бромдезоксипуридин-положительных клеток в субвентрикулярной зоне и обонятельных луковицах уменьшается через 2 дня после введения МФТП [47], в то время как в черной субстанции и гиппокампе наблюдалось усиление нейрогенеза через 10, 15 и 21 день после индуцированного МФТП повреждения у мышей [51, 52]. Экспериментальные данные о полном восстановлении двигательной активности мышей на 7 день после однократного введения МФТП [48] указывают на то, что нейротоксические эффекты МФТП, по-видимому, сопровождаются регенеративными процессами и изменениями соотношения ДОФУК/ДА. Это может указывать на индукцию нейрогенеза, что напоминает изменения после хронического введения флуоксетина и amitриптилина в нашей работе.

Кроме того, нашу гипотезу о возможной роли обмена ДА в процессах нейрогенеза во взрослом мозге млекопитающих поддерживают опубликованные данные о различиях во влиянии острого и длительного стресса на оборот дофамина в ЦНС. Увеличение соотношения ДОФУК/ДА в мПФК наблюдали через 30 мин после электрошока конечностей крыс [53]. Однодневное воздействие социального стресса также приводило к увеличению соотношения ДОФУК/ДА в мПФК и прилежащем ядре у мышей, но это соотношение снижалось до исходных значений через 10 дней после стресса [54]. Следует также отметить, что 21-дневный пренатальный стресс приводил к уменьшению соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе крыс, в то время как комбинация стресса и флуоксетина способствовала поддержанию этого параметра на исходном уровне [55]. Мы предполагаем, что острый стресс или однократное введение нейротоксина может стимулировать пул стволовых клеток, необходимый для нивелирования последствий воздействия этих факторов. Однако длительное воздействие повреждающих факторов может привести к снижению нейротекторных механизмов или толерантности. Хроническое введение флуоксетина, amitриптилина или других антидепрессантов может активировать эти механизмы и способствовать преодолению развившейся толерантности.

Следует отметить, что хроническое введение amitриптилина и флуоксетина способствовало еще большему увеличению содержания НА в гипота-

ламусе по сравнению с НХУС, подчеркивая возможный вклад реакции на стресс в эффективность антидепрессантов. Обнаружено, что нормальный суточный ритм секреции кортикостерона необходим для реализации стимулирующего влияния флуоксетина на нейрогенез в зубчатой извилине гиппокампа взрослых крыс [56]. Более того, флуоксетин не влиял на пролиферацию нервных стволовых клеток в гиппокампе крыс с адреналэктомией, но ежедневное введение кортикостерона приводило к восстановлению нейрогенного эффекта флуоксетина [56]. Amitриптилин, как и флуоксетин, усиливает пролиферацию только в присутствии дексаметазона или кортизола [45]. Таким образом, эти результаты поддерживают гипотезу о том, что хроническое стрессовое воздействие играет важную роль в реализации эффектов длительного введения amitриптилина и флуоксетина.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антидепрессивный эффект, наблюдаемый после однократного введения флуоксетина и amitриптилина, совпадал во времени с уменьшением обмена 5-НТ в гиппокампе или с тенденцией к подобным изменениям. Однако хроническое введение amitриптилина и флуоксетина приводило к повышению уровней НА в гипоталамусе. Похожий эффект наблюдался и после процедуры НХУС, но был более выражен после хронического введения изучаемых антидепрессантов (по сравнению с группой НХУС). Паттерн нейрохимических изменений после хронического и однократного введения amitриптилина и флуоксетина отличался. По-видимому, обратные НХУС изменения в обмене ДА и 5-НТ, наблюдаемые после хронического введения изучаемых антидепрессантов, коррелируют с данными по нейрогенезу у взрослых млекопитающих. Дальнейшие исследования механизмов, лежащих в основе взаимодействия между хроническим стрессом, моноаминергическими системами и нейрогенезом в гиппокампе, могут решить проблему, связанную с индуцированной стрессом терапевтически резистентной депрессией, и способствовать поиску новых молекулярных мишеней антидепрессантов. ●

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда (грант № 17-14-01353).*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. El-Hage W., Leman S., Camus V., Belzung C. // *Front. Pharmacol.* 2013. V. 4. № P. 146.
2. Trivedi M.H., Rush A.J., Wisniewski S.R., Nierenberg A.A., Warden D., Ritz L., Norquist G., Howland R.H., Lebowitz B., McGrath P.J., et al. // *Am. J. Psychiatry.* 2006. V. 163. № 1. P. 28–40.
3. Young E.A., Altemus M., Lopez J.F., Kocsis J.H., Schatzberg A.F., DeBattista C., Zubieta J.K. // *Psychoneuroendocrinology.* 2004. V. 29. № 9. P. 1198–1204.
4. Levinstein M.R., Samuels B.A. // *Front. Behav. Neurosci.* 2014. V. 8. P. 208.
5. Willner P. // *Psychopharmacology (Berl).* 1997. V. 134. № 4. P. 319–329.

6. Azpiroz A., Fano E., Garmendia L., Arregi A., Cacho R., Beitia G., Brain P.F. // *Psychoneuroendocrinology*. 1999. V. 24. № 3. P. 345–361.
7. Darwish I.E., Maklad H.M., Diab I.H. // *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* 2013. V. 5. № 2. P. 128–136.
8. Hill M.N., Hellemans K.G., Verma P., Gorzalka B.B., Weinberg J. // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2012. V. 36. № 9. P. 2085–2117.
9. Willner P. // *Neuropsychobiology*. 2005. V. 52. № 2. P. 90–110.
10. Zhu S., Shi R., Wang J., Wang J.F., Li X.M. // *Neuroreport*. 2014. V. 25. № 14. P. 1151–1155.
11. Papp M., Gruca P., Lason-Tyburkiewicz M., Willner P. // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2016. V. 233. № 7. P. 1235–1243.
12. Papp M., Gruca P., Boyer P.A., Mocaer E. // *Neuropsychopharmacology*. 2003. V. 28. № 4. P. 694–703.
13. Willner P. // *Neurobiol. Stress*. 2017. V. 6. P. 78–93.
14. Zhao Q., Wu X., Yan S., Xie X., Fan Y., Zhang J., Peng C., You Z. // *J. Neuroinflammation*. 2016. V. 13. № 1. P. 259.
15. Kudryashov N.V., Kalinina T.S., Voronina T.A. // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2016. V. 46. № 6. P. 601–605.
16. Kudryashov N.V., Kalinina T.S., Shimshir A.A., Korolev A.O., Volkova A.V., Voronina T.A. // *Behav. Pharmacol.* 2018. V. 29. № 4. P. 375–378.
17. Rayevsky K.S., Narkevich V.B., Klodt P.M., Kudrin V.S. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012. V. 153. № 5. P. 689–693.
18. Johnson S.A., Fournier N.M., Kalynchuk L.E. // *Behav. Brain Res.* 2006. V. 168. № 2. P. 280–288.
19. Haider S., Naqvi F., Batool Z., Tabassum S., Perveen T., Saleem S., Haleem D.J. // *Sci. Pharm.* 2012. V. 80. № 4. P. 1001–1011.
20. Torres I.L., Gamaro G.D., Vasconcellos A.P., Silveira R., Dalmaz C. // *Neurochem. Res.* 2002. V. 27. № 6. P. 519–525.
21. Patterson Z.R., Ducharme R., Anisman H., Abizaid A. // *Eur. J. Neurosci.* 2010. V. 32. № 4. P. 632–639.
22. Rasheed N., Tyagi E., Ahmad A., Siripurapu K.B., Lahiri S., Shukla R., Palit G. // *J. Ethnopharmacol.* 2008. V. 117. № 2. P. 257–262.
23. Vancassel S., Leman S., Hanonick L., Denis S., Roger J., Nollet M., Bodard S., Kousignian I., Belzung C., Chalou S. // *J. Lipid Res.* 2008. V. 49. № 2. P. 340–348.
24. Yalcin I., Coubard S., Bodard S., Chalou S., Belzung C. // *Psychopharmacol. (Berl.)*. 2008. V. 200. № 4. P. 497–507.
25. Miura H., Naoi M., Nakahara D., Ohta T., Nagatsu T. // *J. Neural. Transm. Gen. Sect.* 1993. V. 94. № 3. P. 175–187.
26. Renard C.E., Dailly E., David D.J., Hascoet M., Bourin M. // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2003. V. 17. № 4. P. 449–455.
27. Fujino K., Yoshitake T., Inoue O., Ibi N., Kehr J., Ishida J., Nohta H., Yamaguchi M. // *Neurosci. Lett.* 2002. V. 320. № 1–2. P. 91–95.
28. Linthorst A.C., Penalva R.G., Flachskamm C., Holsboer F., Reul J.M. // *Eur. J. Neurosci.* 2002. V. 16. № 12. P. 2441–2452.
29. Mahar I., Bambico F.R., Mechawar N., Nobrega J.N. // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2014. V. 38. P. 173–192.
30. de Andrade J.S., Céspedes I.C., Abrão R.O., Dos Santos T.B., Diniz L., Britto L.R., Spadari-Bratfisch R.C., Ortolani D., Melo-Thomas L., da Silva R.C., et al. // *Behav. Brain Res.* 2013. V. 250. P. 81–90.
31. Mineur Y.S., Belzung C., Crusio W.E. // *Neuroscience*. 2007. V. 150. № 2. P. 251–259.
32. Alenina N., Klempin F. // *Behav. Brain Res.* 2015. V. 277. P. 49–57.
33. Brezun J.M., Daszuta A. // *Hippocampus*. 2000. V. 10. № 1. P. 37–46.
34. Jha S., Rajendran R., Davda J., Vaidya V.A. // *Brain Res.* 2006. V. 1075. № 1. P. 48–59.
35. Sodom K., Turrin N.P., Hayley S., Anisman H. // *Neuroimmunomodulation*. 2004. V. 11. № 5. P. 341–350.
36. Tannenbaum B., Tannenbaum G.S., Sodom K., Anisman H. // *Brain Res.* 2002. V. 953. № 1–2. P. 82–92.
37. Tannenbaum B., Anisman H. // *Biol. Psychiatry*. 2003. V. 53. № 4. P. 292–303.
38. Hodge R.D., Kowalczyk T.D., Wolf S.A., Encinas J.M., Rippey C., Enikolopov G., Kempermann G., Hevner R.F. // *J. Neurosci.* 2008. V. 28. № 14. P. 3707–3717.
39. Kempermann G., Jessberger S., Steiner B., Kronenberg G. // *Trends Neurosci.* 2004. V. 27. № 8. P. 447–452.
40. Perederiy J.V., Luikart B.W., Washburn E.K., Schnell E., Westbrook G.L. // *J. Neurosci.* 2013. V. 33. № 11. P. 4754–4767.
41. Jhaveri D.J., Mackay E.W., Hamlin A.S., Marathe S.V., Nandam L.S., Vaidya V.A., Bartlett P.F. // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. № 7. P. 2795–2806.
42. Paul A., Chaker Z., Doetsch F. // *Science*. 2017. V. 356. № 6345. P. 1383–1386.
43. Yoo S., Blackshaw S. // *Prog. Neurobiol.* 2018. V. 170. P. 53–66.
44. Xue R., He X.H., Yuan L., Chen H.X., Zhang L.M., Yong Z., Yu G., Fan S.Y., Li Y.F., Zhong B.H., et al. // *J. Pharmacol. Sci.* 2016. V. 130. № 1. P. 1–7.
45. Anacker C., Zunszain P.A., Cattaneo A., Carvalho L.A., Garabedian M.J., Thuret S., Price J., Pariante C.M. // *Mol. Psychiatry*. 2011. V. 16. № 7. P. 738–750.
46. Kirby E.D., Muroy S.E., Sun W.G., Covarrubias D., Leong M.J., Barchas L.A., Kaufer D. // *Elife*. 2013. V. 2. P. e00362.
47. He X.J., Nakayama H. // *Neurotoxicology*. 2015. V. 50. P. 46–55.
48. Kapitzka I.G., Kalinina T.S., Nerobkova L.N., Voronina T.A., Klodt P.M., Narkevich V.B., Kudrin V.S. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2008. V. 146. № 1. P. 52–55.
49. Zhang L., Nagai T., Yamada K., Ibi D., Ichihara S., Subramanian K., Huang Z., Mohideen S.S., Naito H., Ichihara G. // *Toxicology*. 2013. V. 304. P. 76–82.
50. Zhang W., Shin E.J., Wang T., Lee P.H., Pang H., Wie M.B., Kim W.K., Kim S.J., Huang W.H., Wang Y., et al. // *FASEB J.* 2006. V. 20. № 14. P. 2496–2511.
51. Shan X., Chi L., Bishop M., Luo C., Lien L., Zhang Z., Liu R. // *Stem Cells*. 2006. V. 24. № 5. P. 1280–1287.
52. Zhao M., Momma S., Delfani K., Carlen M., Cassidy R.M., Johansson C.B., Brismar H., Shupliakov O., Frisen J., Janson A.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. № 13. P. 7925–7930.
53. Robinson T.E., Becker J.B., Young E.A., Akil H., Castaneda E. // *Neuropharmacology*. 1987. V. 26. № 7A. P. 6679–6691.
54. Tanaka K., Furuyashiki T., Kitaoka S., Senzai Y., Imoto Y., Segi-Nishida E., Deguchi Y., Breyer R.M., Breyer M.D., Narumiya S. // *J. Neurosci.* 2012. V. 32. № 12. P. 4319–4329.
55. Gemmel M., Rayen I., Lotus T., van Donkelaar E., Steinbusch H.W., De Lacalle S., Kokras N., Dalla C., Pawluski J.L. // *Dev. Psychobiol.* 2016. V. 58. № 3. P. 315–327.
56. Huang G.J., Herbert J. // *Biol. Psychiatry*. 2006. V. 59. № 7. P. 619–624.